Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

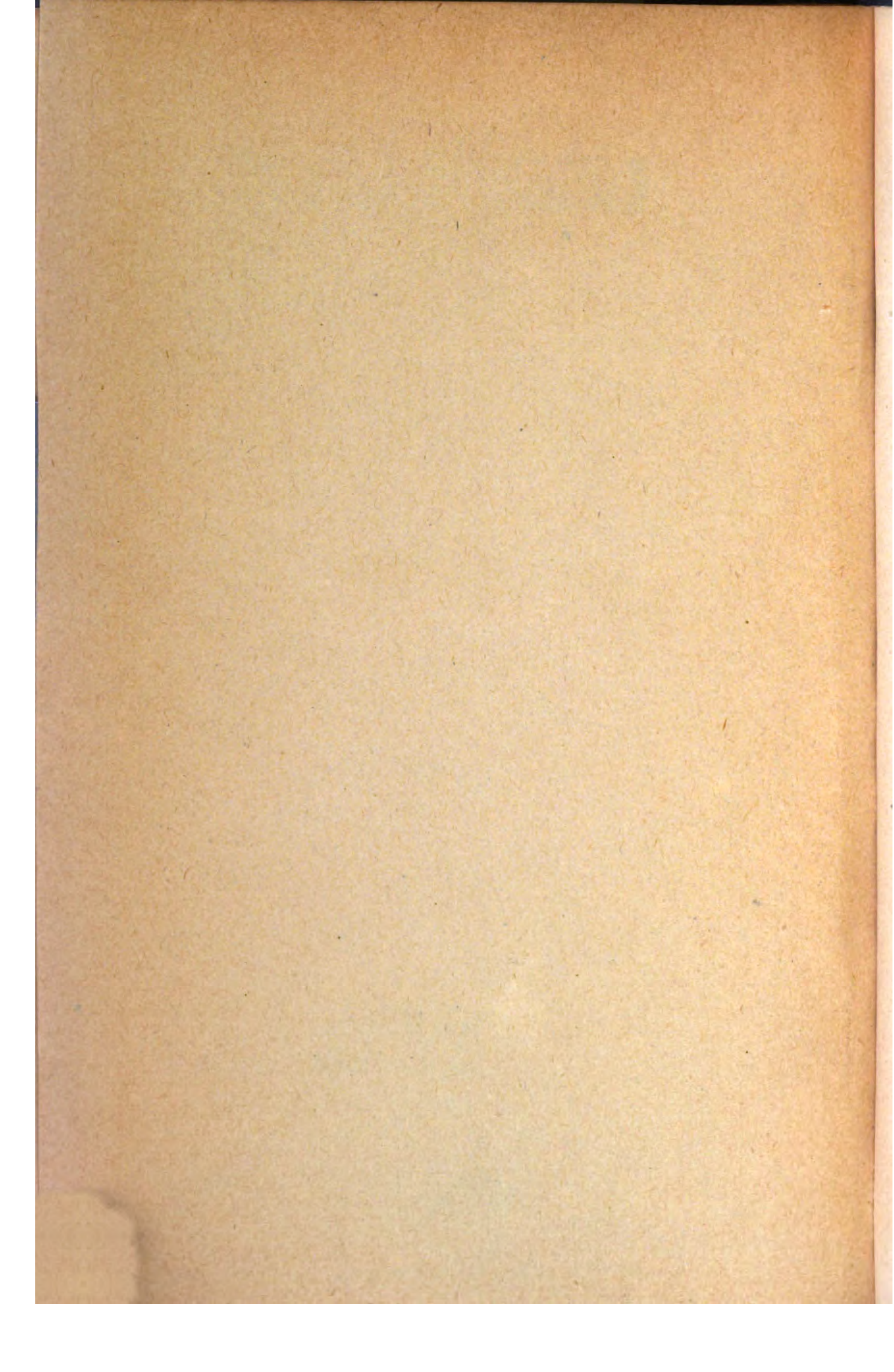
Dreiundvierzigster Band.

Ausgegeben am 29. Juli 1912.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1912.


CHEMISTRY LIBRARY



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **P. Ehrlich**-Frankfurt a. M., **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. von Noorden**-Wien, **E. Salkowski**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Dreiundvierzigster Band.



Berlin.

Verlag von Julius Springer.

1912.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Zur Frage der Wirkung der Phosphate auf die postmortale Atmung der Pflanzen.

Von

W. Zaleski und Elisabeth Marx.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 28. Mai 1912.)

Die in unserem Laboratorium ausgeführten Versuche haben gezeigt[1]), daß alkalisch reagierende sekundäre Phosphate die CO_2-Produktion der zerriebenen Samen und Weizenkeime steigern. Da die zerriebenen Erbensamen und Weizenkeime in einigen Fällen[2]) in der Luft und im Wasserstoff eine gleiche CO_2-Menge ausscheiden und da die Atmung dieser Objekte durch Zymin- und Hefanolextrakte sehr erheblich stimuliert wird[3]), so könnte man daraus schließen, daß sekundäre Phosphate in diesem Falle den Prozeß der alkoholischen Gärung befördern. In der Tat haben wir gefunden, daß die zerriebenen Erbsensamen eine ansehnliche Alkoholmenge bilden[4]). Wenn die zerriebenen Weizenkeime in der Luft weniger Alkohol bilden, so kann dieses Resultat durch den Verbrauch desselben bedingt sein[5]).

Dennoch haben unsere Bemühungen, eine Synthese von Hexosephosphaten, die bei der Hefegärung sich bilden, zu finden, zu keinen positiven Resultaten geführt. So konnten[6]) wir keine

---

[1]) Literatur über diese Frage: Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. 27, 466, 1910.

[2]) Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. 35, 237, 1911.

[3]) Wir haben eine kolossale Stimulation der CO_2-Ausscheidung in diesem Falle beobachtet, was später Kostytschew und Scheloumow (Jahrb. f. wiss. Botan. 50, 157, 1911) gezeigt haben.

[4]) Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. 35, l. c.

[5]) Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. (vor kurzem erschienen).

[6]) Die noch nicht publizierte Arbeit von J. Anna Rosenberg.

Bildung der organischen Phosphorverbindung in Erbsensamen und Weizenkeimen, sowie in den aus diesen Objekten bereiteten Extrakten nach dem Zusatz von Phosphaten, Glucose und Gärungsprodukten derselben finden. Dennoch halten wir diese Versuche für nicht abgeschlossen und werden später nochmals darauf zurückkommen.

Die Wirkung der Phosphate auf die CO_2-Produktion der Samen- und Weizenkeime stellt also eine offene Frage dar.

Wir haben früher gezeigt[1]), daß sauer reagierende primäre Phosphate die CO_2-Produktion der zerriebenen Erbsensamen vermindern. Da aber die schwachen Säuren und sogar Neutralsalze die CO_2-Ausscheidung dieser Objekte herabsetzen, so haben wir den folgenden Schluß gezogen: „Die sauren Phosphate schwächen die Ausscheidung der Kohlensäure infolge der sauren Reaktion.“

Es drängt sich die Vermutung auf, daß Phosphationen nur in Anwesenheit von freien Hydroxylionen bzw. bei alkalischer Reaktion des Mediums die CO_2-Produktion der Erbsensamen und Weizenkeime steigern. Es ist aber auch denkbar, daß sekundäre Phosphate nur dank alkalischer Reaktion wirken und Phosphationen selbst keine Rolle dabei spielen. Für eine solche Voraussetzung sprechen auf den ersten Blick unsere Versuche mit anderen Fermenten, die einen Anteil an den Atmungsprozessen haben. So haben wir gezeigt[2]), daß sekundäre Phosphate die Arbeit der Katalase, Peroxydase und Reduktase der Erbsensamen steigern. Diese Wirkung üben aber nicht die Phosphationen selbst, sondern die alkalische Reaktion der Lösung aus[3]).

Die Versuche über die Wirkung der alkalisch reagierenden Stoffe auf die postmortale CO_2-Produktion der Samen und Weizenkeime wurden in unserem Laboratorium schon im vorigen Jahre begonnen und nur aus äußeren Gründen abgebrochen. Vor kurzem erschien die Arbeit von Kostytschew und Scheloumow[4]), die zu dem Schlusse gekommen sind, daß „die Einwirkung sekundärer Phosphate auf Sauer-

[1]) Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. 27, l. c.
[2]) Zaleski und Reinhard, ibid.
[3]) Zaleski und Anna Rosennberg, diese Zeitschr. 33, 1, 1911.
[4]) Kostytschew und Scheloumow, l. c.

stoffatmung der Weizenkeime zum größten Teil auf die Beförderung der CO_2-Produktion durch alkalische Reaktion der Lösung zurückzuführen ist. Der Einfluß der Phosphationen selbst ist gering". Die Autoren haben gezeigt, daß verdünnte Lösungen von NaHO und Na_2CO_3 eine starke Zunahme der CO_2-Produktion der Weizenkeime bewirken.

Die Versuche von Kostytschew und Scheloumow wurden mit abgetöteten Weizenkeimen[1]) ausgeführt, die, wie unsere Experimente zeigen[2]), nur anaerobe Atmung haben. Die Verfasser haben also nicht bewiesen, daß durch alkalische Reaktion aerobe und nicht anaerobe Atmung stimuliert wurde.

Es ist der Zweck vorliegender Mitteilung, den Einfluß der Reaktion auf die postmortale CO_2-Produktion der Erbsensamen und Weizenkeime zu untersuchen.

Unsere Versuche wurden mit den fein zerriebenen Objekten ausgeführt. Das Pulver wurde mit destilliertem Wasser und einer anderen Lösung befeuchtet[3]) und der so erhaltene Brei wurde auf den Wänden des Kolbens in dünner Schicht verteilt. Die Lösungen, die zum Befeuchten des Pulvers dienten, wurden mit Toluol (4 %) versetzt und außerdem wurde zwischen Rezipienten und den Natronkalkröhren eine Toluol enthaltende Flasche eingeschaltet. Die von den Objekten ausgeschiedene Kohlensäure wurde durch Bariumhydroxydlösung absorbiert. Wir haben zu unseren Versuchen NaHO-Lösungen von derselben Alkalescenz wie 1 %ige Na_2HPO_4-Lösung genommen. Weiter haben wir das Pulver mit den Lösungen von Neutralrot, Piperidin und anderen Basen befeuchtet.

In anderen Versuchen wurden Eiweißstoffe genommen. Einige Eiweißstoffe haben ausgesprochen sauren, andere basischen Charakter. Weiter können gewisse Eiweißstoffe Neutralsalze unter Bildung starker Basen spalten, und da sie die Säuren von Salzen binden können, so wird die Reaktion des Mediums verändert. Zu diesem Zwecke haben wir Casein, das wie eine Säure wirkt, und Edestin genommen. In diesen Versuchen wurde das Pulver der Samen und Weizenkeime mit Casein oder Edestin vermischt und dann wurde das Gemisch

---

[1]) Die Weizenkeime waren nicht keimfähig.

[2]) Zaleski und Reinhard, diese Zeitschr. 35, l. c.

[3]) Auf je 1 g des Pulvers je 1 ccm der Flüssigkeit.

mit einer entsprechenden Menge Wasser befeuchtet[1]). Zum Vergleich wurden auch Versuche mit verschiedenen anorganischen und organischen Kolloiden in derselben Weise[2]) ausgeführt.

Versuche 1 bis 4.

CO_2 für 3 g Weizenkeimpulver pro 21 bis 22 Stunden in mg:

H_2O . . .	24	21	24	12
NaHO . .	52	62	—	—
Edestin . .	—	—	51	34
t^0	17	16,5	17	12

Versuche 5 bis 10.

CO_2 für 5 g Erbsenpulver pro 21 bis 23 Stunden in mg:

H_2O . . .	11	13,5	13	25	11	11
NaHO . .	17	21,0	19	—	—	—
Na_2HPO_4 .	—	—	—	46	—	—
Edestin . .	—	—	—	—	16,5	19,5
t^0	11	12	12	15	11	11

Versuche 11 bis 12.

CO_2 für 6 g Erbsenpulver pro 20 Stunden in mg:

H_2O . . .	26	38
NaHO . .	37	49

Versuche 13 bis 16.

CO_2 für 10 g Erbsenpulver pro 6 Stunden in mg:

H_2O . . .	25	25	22	22
Edestin . .	38	39	—	—
Casein . .	—	—	7	7

Versuche 17 bis 20.

CO_2 für 10 g Erbsenpulver pro 6 Stunden in mg:

H_2O	21	19	23
Eisenhydroxyd	5	5	—
Kaolin . . .	18	16	—
Tonerde . .	—	—	19

Versuche 21 bis 23.

CO_2 für 10 g Erbsenpulver pro 6 Stunden in mg:

H_2O	34	24	26
Stärke . . .	26	—	—
Takadiastase .	—	14	—
Papayotin .	—	—	15

[1]) Auf je 1 g des Gemisches je 1 ccm Wasser.

[2]) Alle Substanzen wurden mit dem Mehl in einer Proportion (3:10) vermischt.

Die sauer reagierenden Substanzen, wie z. B. Casein, setzen die postmortale CO_2-Produktion der Erbsensamen und Weizenkeime sehr erheblich herab. Zwar üben verschiedene Kolloide, wie Kaolin, Tonerde und sogar Stärke, sowie Fermente, wie Papayotin und Takadiastase, einen hemmenden Einfluß auf die CO_2-Produktion dieser Objekte aus, dennoch wirken diese Substanzen nicht so schädlich wie Casein auf diesen Prozeß ein. Daher schreiben wir die hemmende Wirkung des Caseins seinem sauren Charakter zu. Demgegenüber steigern NaHO und Edestin[1]), das in diesem Falle wie eine Base wirkt, die postmortale CO_2-Produktion der oben genannten Objekte sehr erheblich. Wir haben verschiedene Basen, wie Neutralrot, Piperidin usw. in dieser Richtung geprüft, aber keine positiven Resultate bekommen.

Wenn alkalisch reagierende Substanzen, wie sekundäre Phosphate, NaHO und Edestin, einen stimulierenden Einfluß auf die postmortale CO_2-Produktion der Erbsensamen und Weizenkeime ausüben, können wir dennoch nicht behaupten, daß Hydroxylionen selbst eine solche Wirkung äußern, wie es Kostytschew und Scheloumow meinen. Man muß erst beweisen, daß Hydroxylionen bei Abwesenheit von Phosphationen die CO_2-Produktion stimulieren. Da aber die Erbsensamen und Weizenkeime anorganische Phosphate enthalten[2]), so ist es wahrscheinlicher, daß der Einfluß der Phosphationen nur bei der alkalischen Reaktion bzw. in Anwesenheit von freien Hydroxylionen zum Vorschein kommt. Wenn also Phosphationen bei alkalischer Reaktion die anaerobe Atmung steigern, so bleibt doch unentschieden, ob diese eine solche Wirkung auch auf die Sauerstoffatmung ausüben können.

Man muß auch bemerken, daß die Steigerung der CO_2-Produktion durch alkalisch reagierende Stoffe nicht immer auf die Stimulation der Atmung durch diese Substanzen zurückzuführen ist. Die alkalische Reaktion der Lösung schützt die Atmungsfermente vor der Vernichtung und dadurch wird die Totalmenge der ausgeschiedenen CO_2 größer. Wir haben schon oben darauf hingewiesen, daß alkalisch reagierende Substanzen

[1]) Zaleski, Der Umsatz und die Rolle der Phosphorverbindungen in den Pflanzen (russisch) 1912, S. 180.

[2]) Zaleski, ibid. S. 68.

die Katalase während der Autolyse schützen. Es ist interessant, daß auch Edestin eine solche Wirkung zeigt. So z. B.

Versuche 24 bis 25.

4 Portionen Erbsensamenpulver zu je 0,5 g wurden mit 1. 20 ccm Wasser, 2. mit 0,2 g Edestin und 20,2 ccm Wasser unter Toluolzusatz (4 %) versetzt und 3 Tage lang bei 25° autolysiert.

Manometerstand in Millimetern des Quecksilbers:

nach	5	20 Minuten
H_2O	0	2
Edestin	6	16

Über die künstliche Ernährung der Samenkeime.

Von

W. Zaleski und N. Tutorski.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 1. Juni 1912.)

Die unten beschriebenen Versuche wurden mit Erbsenkeimen (Achsenteile) ausgeführt. Die Keime wurden aus den mit Bromwasser oder Hydroperoxydlösung sterilisierten Samen herausgenommen, rasch mit verdünnter Bromlösung und sterilem Wasser abgewaschen und dann in Reagenzgläsern auf die mit einer Nährlösung getränkte Watte[1]) ausgesät. Jedes Reagenzglas bekam je einen Keim. Die Keime wurden 20 Tage lang im Dunkeln kultiviert; die Kulturen erwiesen sich nach Ablauf des Versuches ganz steril.

Versuch 1.

Kulturen der Keime in Knopscher Nährlösung mit einem Zusatz von Kohlenhydraten.

	100 Keime		1 Keim
	Wasser-gehalt g	Trocken-gewicht g	Stengellänge in cm
Saccharose 5,13 %	18,92	1,32	10,0
Lävulose 2,7 %	—	1,02	6,6
Glucose 2,7 %	13,34	0,76	6,7
Maltose 5,13 %	9,55	0,80	4,0
Galactose 2,7 %	1,88	0,37	kein Wachstum, abgestorben

Versuch 2.

Kulturen in Knopscher Nährlösung mit einem Zusatz von Kohlenhydraten.

	100 Keime		1 Keim
	Wasser-gehalt g	Trocken-gewicht g	Stengellänge in cm
Saccharose 5,13 %	19,21	1,77	13,6
Lävulose 2,7 %	17,86	1,17	9,6
Glucose 2,7 %	12,06	0,86	9,1
Wasserkultur (ohne Zucker)	2,58	0,29	kein Wachstum

[1]) Die untere Hälfte der Watte wurde in die Nährlösung versenkt.

Wir sehen, daß die Erbsenkeime im Dunkeln ein beträchtliches Wachstum zeigen und ihr Trockengewicht um 510°/₀ vermehren. Die Saccharose stellt das geeignetste Material zum Aufbau der Zellen der Keime dar, während die anderen Zucker (Lävulose, Glucose und Maltose) fast in gleicher Weise verarbeitet werden. Demgegenüber bleibt die Galactose bei den Erbsenkeimen unbenutzt, was seinen Grund in dem spezifischen Bauplan der Zellen hat. Die Zucker werden zuerst abgebaut und dann zum Aufbau der Zellen verbraucht; es ist wahrscheinlich, daß die Erbsenkeime keine Fermente für den Abbau der Galactose haben. Es ist kaum zu zweifeln, daß die Keime anderer Samen auch Galactose verarbeiten können.

Wenden wir uns nun zur Frage der Ernährung der Erbsenkeime mit Stickstoffverbindungen.

Versuch 3 bis 4.

Die Erbsenkeime wurden in Saccharoselösung (5,13°/₀) mit dem Zusatz von 1. Nitraten (in voller Knopscher Nährlösung), 2. Ammoniumphosphat 0,2°/₀ (in Knopscher Lösung ohne Nitrate), 3. asparaginsaurem Natrium 0,2°/₀ (in Knopscher Lösung ohne Nitrate) kultiviert. Zu diesen Nährlösungen wurde eine geringe Menge Gips gefügt. Außerdem wurden die Cotyledonen der Erbsen im Mörser zerrieben, und der so erhaltene Brei wurde nach der Sterilisation als Substrat für Erbsenkeime benutzt[1]).

	100 Keime			Eiweiß-N in °/₀ des Trockengewichts
	Trockengewicht g	Gesamt-N g	Eiweiß-N g	
Nitrate	1,28	—	0,0254	1,98
Ammoniak	1,07	0,0456	0,0236	2,21
Asparaginsäure	1,28	—	0,0243	1,85
Cotyledonenbrei	kein Wachstum			
Keime vor der Kultur	0,29	0,0199	0,0179	6,17

Die Erbsenkeime bilden im Dunkeln auf Kosten der Nitrate, des Ammoniaks und der Asparaginsäure eine ansehnliche Menge (38°/₀) Eiweißstoffe. Diese Substanzen werden aber indirekt zum Aufbau der Eiweißstoffe verwendet. Die Nitrate werden

[1]) Wir führen Durchschnittszahlen aus zwei Versuchen an.

zuerst durch Abbauprodukte der Saccharose reduziert und der Stickstoff derselben wird in Ammoniak übergeführt, das zur Bildung der Aminosäuren dient. Die Asparaginsäure wird teils direkt zum Aufbau der Eiweißstoffe verbraucht, größtenteils aber desaminiert, und das gebildete Ammoniak zur Bildung der Aminosäuren verwendet. Wir können nicht annehmen, daß Ammoniak direkt zu Eiweiß verarbeitet wird, da wir über keine Tatsachen verfügen, die dafür sprechen könnten, daß Ammoniak bei den höheren Pflanzen direkt am Aufbau der Eiweißstoffe teilnimmt.

Unsere Versuche der Ernährung der Keime mit verschiedenen Aminosäuren, sowie mit den Gemischen derselben sind noch nicht zu Ende gekommen, und wir werden später auf diese Frage zurückkommen.

Über die Abhängigkeit des Phloridzindiabetes von der Nahrungszufuhr, vom Körpergewicht und von der Wasserdiurese.

Von

Max Roth (Berlin).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 7. Juni 1912.)

Die Anwendung des Phloridzins ist für die Untersuchung der Nierenfunktionen eine klinische Methode von großer Bedeutung geworden. Wir messen nach der Phloridzininjektion den Zuckergehalt des Harns, der von jeder Niere mittels des Ureterenkatheterismus besonders aufgefangen ist, vergleichen die ausgeschiedenen Zuckermengen der linken und rechten Niere miteinander und schließen daraus auf die Funktionstüchtigkeit oder Untüchtigkeit der Nieren. Diese Methode hat auch heute noch einige Gegner, und einer der wichtigsten Vorwürfe, die gegen sie erhoben worden sind, besteht darin, daß bei demselben Individuum dieselbe Menge eingespritzten Phloridzins erhebliche Unterschiede sowohl in der Zeit des Beginns der Reaktion als auch in der Stärke der Zuckerausscheidung aufweist. So berichtet Mehring, daß bei einem Menschen, bei dem er 30 Tage lang je 2 g Phloridzin injiziert hatte, die in 24 Stunden ausgeschiedenen Zuckermengen zwischen 79 und 164 g schwanken. Ich selbst habe bei Menschen wie bei Tieren viel größere Unterschiede gefunden, z. B. bei einem gesunden Manne nach einer Injektion von 0,01 g Phloridzin Zuckerwerte von 54 bis 189 cg, bei einem gesunden Hunde nach einer Injektion von 0,001 g Phloridzin 6 bis 195 cg Saccharum. (Siehe nachfolgende Tabelle.) Der Eintritt der Saccharumreaktion erfolgte bei demselben Individuum bald nach 10 Minuten, bald nach 20 bis 25 Minuten, Tatsachen, deren Aufklärung für die Klinik von entschiedener Bedeutung sind.

Es ist längst außer Zweifel gestellt, daß der Phloridzindiabetes ein Nierendiabetes ist. Man kann sich aber nur schwer vorstellen, daß, wenn es hierbei nur auf die Nierentätigkeit ankommt, bei einem und demselben gesunden Individuum bei der gleichen Dosis Phloridzin so erhebliche Schwankungen in der Zuckerausscheidung stattfinden sollen. Es müssen also noch außerhalb der Nieren liegende Faktoren hierbei in Betracht kommen und da liegt es nahe, den nach der Phloridzininjektion eintretenden Zuckerverlust des Körpers mit seinem augenblicklichen Zuckerbesitz bzw. mit dem Zuckergehalt des Blutes in Beziehung zu setzen. Dieser Gedanke führt darauf, einen etwaigen Zusammenhang der Nahrungszufuhr mit der Größe der Phloridzin-Saccharum-Ausscheidung zu untersuchen. Nach dieser Richtung hin liegen bisher nur relativ wenig Untersuchungen vor. Mehring[1]), der als erster diese Verhältnisse studierte, kam an Versuchen bei Hunden zu dem Resultat, daß nach Phloridzininjektion bei reichlicher Amylaceennahrung nicht mehr Zucker ausgeschieden würde, als bei ausschließlicher Fleischkost, daß dagegen bei größerer Fettzufuhr die Zuckerausscheidung ganz bedeutend geringer war. Nach ihm beschäftigten sich 1890 Moritz und Praußnitz[2]) mit diesem Gegenstand und stellten folgende Thesen auf:

1. Die Zuckermenge steigt mit der Menge der zugeführten Nahrung, soweit diese aus Zucker oder aus im Körper zuckerbildenden Stoffen besteht, d. h. aus Kohlenhydraten oder Fleisch.

2. Die Zuckerausscheidung kann im Hunger ebenso hoch und höher sein, als bei mäßiger Nahrung mit Fleisch oder Kohlenhydraten.

3. Bei Fleischkost kann ebensoviel und mehr Zucker ausgeschieden werden, als bei Kohlenhydratkost, wenn nur erstere im Verhältnis reichlicher ist.

Abgesehen davon, daß die erste und zweite These miteinander im Widerspruch stehen, sind die Versuche von Moritz und Praußnitz ebensowenig wie die von Mehring beweisend, weil das Phloridzin per os verabreicht wurde, denn man weiß bei dieser Art Applikation niemals, wieviel wirklich resorbiert worden ist; und wenn auch Moritz und Praußnitz nachge-

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 14, 16, 1888.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 27, 1890.

wiesen haben, daß sich im Darminhalt ihrer Versuchstiere kein Phloridzin mehr befand, so ist auch dieser Grund nicht stichhaltig, da O. Loewi[1]) gezeigt hat, daß das Phloridzin im Darm zersetzt wird, daß bei der Spaltung ein schwer resorbierbares, diabetesmachendes Produkt entsteht. Loewi vermied diesen Fehler durch subcutane Einverleibung des Phloridzins und kam zu dem interessanten Resultat, daß eine Steigerung der Ploridzindosis von 1,5 auf 2,5 g von einem Tage zum andern keine Steigerung der Gesamtzuckermenge erzeugt, daß aber letztere erheblich vermehrt wird, wenn gleichzeitig mit der Steigerung der Phloridzingabe die Fleischration von 250 auf 500 g erhöht wird. In den letzten Jahren fand Salomon[2]) bei Versuchen an Menschen, daß bei 13stündiger Nahrungsenthaltung der Eintritt der Reaktion erheblich verzögert wird.

Will man Vergleiche anstellen zwischen den ausgeschiedenen Zuckermengen nach verschiedenen Fütterungsarten oder unter sonst verschiedenen Bedingungen, so ist der Schluß von einem Tier auf ein anderes Tier, wenngleich derselben Gattung, nicht zulässig; ein Fehler, der von sehr vielen Untersuchern der Phloridzinfrage begangen worden ist. So hat man in zahlreichen Fällen bei gleicher Phloridzindosis die Zuckermenge je nach dem Gewicht des Tieres berechnet. Hierbei mußte man schon in Verlegenheit geraten, ob man sie bei größerem Gewicht des Tieres größer oder kleiner erwarten soll, denn ebensogut wie man sagen kann, daß das schwerere Tier mehr Zucker für die Ausscheidung zur Verfügung hat, kann man auch behaupten, daß bei einem schwereren Tiere eine größere Dosis nötig ist, um denselben Effekt zu erzielen. Diese Entscheidung kann vorläufig schon deshalb nicht getroffen werden, weil der Mechanismus der Phloridzinwirkung vollständig im Dunkeln liegt. Dagegen läßt sich an zahlreichen Beispielen aus der Literatur beweisen, daß die Menge der Zuckerausscheidung nach gleich starker Phloridzininjektion individuell außerordentlich verschieden bei verschiedenen Tieren auch derselben Gattung ist und absolut nicht vom Gewicht abhängt.

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. **47**, 1902.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. **17**, 1907.

So fand **Erlandsen**[1]) nach 0,75 g Phloridzin bei
1 Kaninchen von 1900 g Gewicht 3,24 g Gesamtsaccharumausscheidung,
1 „ „ 2200 g „ 2,85 g „
Pflüger und **Junkersdorf**[2]) bei Hunden, denen unter Kabliaufütterung an drei aufeinanderfolgenden Tagen je 1 g Phloridzin injiziert wurde
bei einem Gewicht von 3,6 kg 22,4 g Gesamtsaccharummenge
„ „ „ „ 3,7 kg 29,0 g „
ferner
„ „ „ „ 8,7 kg 32,2 g „
„ „ „ „ 7,7 kg 36,6 g „
also beim zweiten Hund trotz gleichem oder geringerem Gewicht erheblich größere Saccharumausscheidung, ferner
bei 5,2 kg Gewicht 37,5 g Saccharum,
„ 12,2 kg „ 39,6 g „
ferner während der Hungerperiode
bei 8,7 kg Gewicht 37,0 g Saccharum,
„ 9,2 kg „ 61,8 g „
also einmal bei mehr als dem doppelten Gewicht fast die gleiche, das zweite Mal bei fast gleichem Gewicht beinahe die doppelt so große Zuckerausscheidung.

In einer anderen Arbeit fand **Junkersdorf**[3]) unter völlig gleichen Bedingungen nach 3 mal je 1 g Phloridzin in 24stündigen Intervallen
bei Hund 3, Gewicht **10** kg, 51,2 g Gesamtzuckerausscheidung,
nach 3 mal je **1,5** g Phloridzin
bei Hund 5, Gewicht 20 kg, 63,5 g Gesamtzuckerausscheidung.

Um den Einfluß der Nahrung auf die Phloridzinzuckerausscheidung zu studieren, mußte ich also diese Fehler vermeiden und meine Versuche stets an demselben Tier anstellen.

Die Phloridzindosen wählte ich im Gegensatz zu den meisten Autoren sehr niedrig, nämlich 0,001 g intramuskulär, aus verschiedenen Gründen. Die großen Dosen sind dort angebracht, wo es darauf abgesehen ist, die Herkunft des Zuckers im Körper zu studieren. Hierbei handelt es sich mehr um Intoxikationen, und es geschehen große Umwälzungen im Stoffwechsel des Organismus, insofern große Zuckerverluste des Körpers zu decken sind. In meinen Versucken aber kam es mir darauf an, die Phloridzinzuckerausscheidung unter **normalen** Verhältnissen zu studieren und einen Einblick in den Mechanismus der Phloridzinwirkung zu gewinnen. Ich konnte deshalb auch auf die N-Bestimmung im Harn verzichten, weil

---

[1]) Diese Zeitschr. **1910**, 329.
[2]) Arch. f. Physiol. **131**, 1910.
[3]) Arch. f. Physiol. **137**, 1911.

diese ja auch nur der Betrachtung nach der Herkunft des Zuckers dient. Die Dosis von 0,001 g entspricht etwa den Dosen, die wir für klinische Zwecke beim Menschen anwenden (0,01). Sie ist nicht zu niedrig, denn ich bekam bei weit über 100 Versuchen an mehr als 30 gesunden Hunden danach stets Zuckeransscheidung im Urin. Ferner hatte ich bei dieser Dosierung den Vorteil, bei der relativ kurzdauernden Reaktionszeit den ganzen Versuch überwachen, Beginn und Aufhören der Zuckerausscheidung beobachten zu können. Auch boten mir die kleinen Dosen eher Aussicht, unter verschiedenen Nahrungsbedingungen Verschiedenheiten im Eintritt der Reaktion feststellen zu können. Schließlich erleichtert das Nichtvorkommen linksdrehender Substanzen nach den kleinen Versuchsmengen im Gegensatz zu den größeren ganz erheblich die quantitative Zuckeruntersuchung des Harns.

Die Versuche wurden an männlichen Hunden vorgenommen, und zwar anfangs in der Weise, daß nach Bickels Vorgang eine Blasenfistel an der vorderen Bauchwand angelegt wurde: Nach Freilegung der Blase von der Linea alba aus wurde eine seitliche Ligatur, die etwa in 2 cm Länge die äußere Blasenwand an der tiefsten Stelle faßte, angelegt und der Faden durch eine seitlich von der Schnittwunde mittels eines dicken Troicart verursachte Öffnung der vorderen Bauchwand hindurchgezogen und an die Haut angenäht. Nachdem die Blase hier angewachsen war, wurde sie nach einigen Tagen geöffnet. Die Fistel funktionierte eine Zeitlang recht gut, wird aber allmählich schwieriger zu antrieren, weil sich Granulationsbildungen einstellen, die den Zugang verengern.

Ich konnte mich aber überzeugen, daß für meine Versuche, wie überhaupt wohl für alle Versuche, in denen der Harn quantitativ gesammelt werden soll, die Anlegung der Fistel überflüssig ist; denn wenn ich bei dem Versuchstier die Blase mittels Katheter entleerte, fand ich bei der Kontrolle durch die Fistel die Blase stets leer. Deshalb unternahm ich die späteren Versuche nur mit Katheter. Merkwürdigerweise werden für Harnuntersuchungen von weitaus den meisten Autoren weibliche Hunde genommen.

Bei männlichen Hunden gelingt der Katherismus sehr leicht mit geknöpften französischen Kathetern Nr. 7 bis 10,

Hund I.

Grauer Spitz. Gewicht: 11 kg 300 g.

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Injektionszeit nach Fütterung Std.	Eintritt der Zuckerreaktion Min.	Dauer der Zuckerreaktion Min.	Urinmengen und Reaktion ccm	Ausgeschiedene Zuckermenge cg
Nüchtern						
1. 8. XII. 5′ vor Injektion 150 Aqu. mit Schlundsonde .	—	24	—	—	6,6	4
2. 21. XII. $2\frac{1}{2}$ Std. vor Injektion 280 Aqu. 5′ vor Injektion 200 Aqu. .	—	$26\frac{1}{2}$	25	35	68,8	13,7
3. 2. I. 400 Aqu. 2 Std. vor Injektion	—	24	20	27	28,3 schwachsauer	7
4. 2. II. 3 Std. vor Injektion 400 Aqu. und 5 g Natr. bic.	—	20	15	35	67 stark alkalisch	14
5. 13. II. 400 Aqu. $\frac{1}{2}$ Std. vor Injektion	—	$25\frac{1}{2}$	25	35	10 alkalisch	9
Fleisch						
6. 19. XII. 50 g + 280 Aqu.	vor 18 Std. Futter	3	20	52	15,4	20
7. 20. II. 50 g + 500 Aqu.	vor 41 Std. Futter	3	14	33	73 neutral	7
8. 25. II. 50 g + 400 Aqu.	vor 24 Std. Futter	3	18	30	38 neutral	21
9. 20. XII. 250 g + 280 Aqu.	vor 17 Std. Futter	$2\frac{1}{2}$	25 Kanüle öfter verstopft	75	19	56
10. 31. XII. do.	vor 17 Std. 250 g Fleisch + 280 Aqu.	3	18	48	75 alkalisch	33
11. 6. I. do.	do.	$3\frac{1}{4}$	18	60	77 alkalisch	54
12. 7. I. do.	vor 18 Std. 250 g Fleisch + 280 Aqu.	4	20	60	68 schwach alkalisch	30
13. 28. I. do.	vor 24 Std. Futter	$1\frac{1}{2}$	20	55	92,5 alkalisch	46
14. 31. I. do.	vor 17 Std. 250 g Fleisch	$1\frac{1}{2}$	15	55	29 alkalisch	45
15. 4. II. do.	vor 22 Std. Futter	$1\frac{1}{4}$	20	90	89 alkalisch	62
16. 7. II. do.	vor 17 Std. 250 g Fleisch	1	22 Urin läuft schlecht ab	60	16 alkalisch	45

Hund I (Fortsetzung).

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Injektionszeit nach Fütterung Std.	Eintritt der Zuckerreaktion Min.	Dauer der Zuckerreaktion Min.	Urinmenge und Reaktion ccm	Ausgeschiedene Zuckermenge cg
Fleisch						
17. 16. II. 250 g + 280 Aqu.	—	15	15	50	64 sauer	45
18. 22. V. do.	vor 22 Std. Futter	3	20	60	32 alkalisch	57,6
19. 24. VI. 250 g $2^{1}/_{2}$ Std. vor Injektion 400 g Aqu.	vor 24 Std. Futter	$12^{1}/_{2}$	23	60	25 schwach sauer	27,5
20. 1. III. 500 g Fleisch + 200 Aqu.	vor 17 Std. 250 g Fleisch	$2^{3}/_{4}$	17	80	23 alkalisch	49
21. 24. V. 500 g Fleisch + 200 Aqu. $3^{3}/_{4}$ Std. vor Injektion 150 Aqu. + 10 g Natr. bic.	vor 25 Std. 250 g Fleisch vor 17 Std. 500 g Fleisch	$6^{1}/_{4}$	19	60	24 sehr stark alkalisch	49,5
22. 26. V. 500 g Fleisch, 200 Aqu.	vor 22 Std. 250 g Fleisch vor 16 Std. 250 g Fleisch	$5^{1}/_{4}$	23	45	23 sauer	31
23. 23. X. do.	vor 21 Std. 500 g Fleisch	4	20	45	32 alkalisch	34
24. 30. X. do.	do.	$6^{1}/_{2}$	15	45	21 neutral	33
Traubenzucker						
25. 6. III. 50 g Traubenzuck. + 400 Aqu. per Schlundsonde	vor 36 Std. Futter	$2^{3}/_{4}$	20	52	195 schwach sauer	88
26. 9. III. 50 g + 200 Aqu.	vor 20 Std. Futter	$2^{1}/_{4}$	15	110	32 schwach sauer	171
27. 13. III. 50 g + 300 Aqu.	vor 36 Std. Futter	$2^{3}/_{4}$	22	70	36 alkalisch	57
28. 19. III. 50 g + 400 Aqu.	vor 20 Std. Futter	$2^{1}/_{2}$	20	120	95 schwach alkalisch	164
29. 5. VII. 50 g + 300 Aqu. $3^{1}/_{4}$ Std. vor Injektion 400 Aqu.	—	13	15	80	58 schwach sauer	55
30. 4. XI. 50 g + 400 Aqu., vor $3^{1}/_{2}$ Std. 400 Aqu.	vor 18 Std. Futter	$15^{1}/_{2}$	19	40	40 schwach sauer	28
Butter						
31. 5. IV. 100 g, 1 Std. vor Injektion 400 Aqu.	vor 22 Std. Futter	$2^{1}/_{2}$	25	35	56 st. sauer	4

Hund I (Fortsetzung).

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Injektionszeit nach Fütterung Std.	Eintritt der Zuckerreaktion Min.	Dauer der Zuckerreaktion Min.	Urinmenge und Reaktion ccm	Ausgeschiedene Zuckermenge cg
Butter						
32. 19. VI. 100 g, 2 Std. vor Injektion 400 Aqu.	vor 36 Std. Futter	5	25	38	58 schwach sauer	14,4
Brot						
33. 22. III. 100 g Brot + 50 g Butter, $2^1/_4$ Std. vor Injektion 400 Aqu.	vor 20 Std. Futter	$2^1/_2$	20	60	26 schwach sauer	60
34. 30. III. do.	vor 21 Std. Futter	$3^1/_4$	22	90	25 schwach alkalisch	68
35. 3. IV. do.	vor 22 Std. Futter	$2^3/_4$	20	60	19 neutral	54
Casein						
36. 7. VI. 75 g Casein + 400 Aqu. per Schlundsonde	vor 24 Std. Futter	$2^1/_2$	18	75	94 alkalisch	32,5
37. 8. VI. do.	do.	$4^3/_4$	20	60	45 sauer	30
38. 15. VI. 75 g Casein + 400 Aqu.	vor 24 Std. Futter	$2^1/_4$	15	52	45 alkalisch	29

Hund II. Kleiner schwarzer Spitz.

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Std.	Min.	Min.	ccm	cg
39. 22. X. Nüchtern	—	24	25	35	6,5 sauer	12,6
40. 2. XI. 250 g Fleisch, 200 Aqu. vor Versuch getrunken	vor 20 Std. 500 g Fleisch	$2^1/_2$	15	90	9 neutral	48

Hund III. Grauer Spitz, 11,5 kg Gewicht.

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Std.	Min.	Min.	ccm	cg
41. 16. XI. Nüchtern	—	23	20—30 + Urin läuft schlecht ab	30	8,7 neutral	15
42. 23. XI. Nüchtern, vor $2^1/_2$ Std. 300 Aqu.	—	24	25 Red. 27 +	30	13,3 neutral	5

Hund III (Fortsetzung).

Ernährung	Vorletzte Nahrung	Injektionszeit nach Fütterung Std.	Eintritt der Zuckerreaktion Min.	Dauer der Zuckerreaktion Min.	Urinmenge und Reaktion ccm	Ausgeschiedene Zuckermenge cg
43. 25. XI. 250 g Fleisch + 300 Aqu.	vor 20 Std. 250 g Fleisch + Aqu.	3	17 +	40	17 sauer	21
44. 28. XI. do.	do.	3	18 +	45	20 sauer	27
45. 14. II. 50 g Dextrose + 400 Aqu.	do.	3	19 +	40	14	27
	vor Fütterung und vor Injektion je 1 mal Entnahme von 10 ccm Blut aus der Beinvene					
46. 19. II. do.	vor 20 Std. 250 g Fleisch + Aqu.	$1^1/_2$	? Urin läuft schlecht ab	70	15	51

je nach der Größe des Orif. ext. urethr. Es besteht also kein Grund, männliche Hunde von derartigen Versuchen auszuschließen, um so mehr als die Katheter in der männlichen Harnröhre fest liegen, während sie aus der kurzen weiblichen Harnröhre leicht herausgestoßen werden. Abgesehen davon müssen weibliche Hunde erst durch Scheidenschnitt vorbereitet werden.

Im einzelnen war die Versuchsanordnung folgende: Katheterismus und Entleerung der Blase, intramuskuläre Injektion von 1 ccm einer heißen Lösung $^{0,1}/_{100}$ Phloridzin, die vorher im Wasserbad erhitzt wurde, Auffangen des Urins in einem am Boden durchlöcherten, mit abgeklemmtem Gummischlauch armierten Reagensglas.

Bestimmung des Eintrittes: Aufhören der Zuckerreaktion mittels Nylanders Reagens.

Nachdem kein Zucker mehr im Urin nachweisbar ist, wird die Untersuchung doch noch wenigstens $^1/_4$ Stunde fortgesetzt und der Katheter hin und her in der Blase bewegt, um eine Retention von Zuckerharn in der Blase zu vermeiden. Erst wenn dann mehrmalige Kontrolluntersuchungen keinen Zucker mehr ergeben, wird der Versuch beendet. Die Saccharummengen wurden mit einem Polarisationsapparat von Schmidt-

Haensch bestimmt. Häufige nach 24 Stunden vorgenommene Untersuchungen des vergorenen Urins bewiesen stets das Fernsein linksdrehender Substanzen. Die Phloridzinlösungen wurden wenige Male gebraucht, um Zersetzungen auszuschließen, sehr oft nur einmal.

Überblicken wir diese Tabellen, so ist zunächst ein Einfluß der Nahrung auf die Menge des ausgeschiedenen Zuckers, sowie auf den Eintritt und die Dauer der Reaktion unverkennbar.

Bei Tier I bewegen sich die Saccharumwerte nach

	cg	Im Durchschnitt cg
20 bis 26stünd. Nüchternheit zwischen	4 bis 14	9,5
100 g Butter	4 „ 14,4	9,2
250 bis 500 g Fleisch	27,5 „ 62	40,5
100 g Brot	54 „ 68	60,6
50 g Dextrose	28 „ 171	93,8
75 g Casein	29 „ 32,5	30,5
Bei Tier II		
24stünd. Nüchternheit	12,6	—
250 g Fleisch	48	—
Bei Tier III		
23 bis 24stünd. Nüchternheit	1,5 bis 5	3,25
250 g Fleisch	21 „ 27	24
50 g Dextrose	27 „ 51	39

Am niedrigsten sind die Zuckerwerte also nach 20stündiger und längerer Nüchternheit und nach Fett- resp. Butterzufuhr. Dieses Resultat widerspricht der These 2 von Moritz und Praußnitz wohl mit Recht, da, wie vorher ausgeführt, die Versuche fehlerhaft waren; es stimmt dagegen mit den Ergebnissen von Mehring und denen von Salomon überein.

Interessant ist die Tatsache, daß in meinen Versuchen Fettzufuhr keine Steigerung der Zuckerausscheidnng nach Phloridzin hervorruft.

Schon nach 50 g Fleischzufuhr ist die ausgeschiedene Zuckermenge vermehrt, in viel höherem Maße nach 250 g Fleisch, dagegen nicht noch weiter gestiegen bei Erhöhung der Fleischration auf 500 g. Sie beträgt nach

250 g Fleisch von 27,5 bis 62,0 im Durchschnitt 41,0 cg,
500 „ „ „ 31,0 „ 49,5 „ „ 39,3 „

Die etwas niedrigere Durchschnittszahl bei der größeren Fleischdosis erklärt sich daraus, daß bei der letzteren die Injektion in der größeren Zahl der Versuche 2 bis 3 Stunden später als bei der kleineren Fleischration vorgenommen wurde, um eine bessere Ausnützung und Resorption der größeren Fleischzufuhr zu ermöglichen, worauf ich später noch zurückkomme.

Dieses Resultat steht nur scheinbar in Widerspruch mit dem eingangs berichteten Loewis, insofern als dieser die 1000 bis 2000 mal so große Dosis Phloridzin anwendete. Bei der Dosis von 1,5 g war die Grenze der höchstmöglichen Zuckerabgabe bei seinen Versuchstieren erreicht, so daß durch die Steigerung der Dosis auf 2,5 g keine Steigerung der Zuckerabgabe hervorgerufen wurde, wohl aber durch die Erhöhung der Fleischration von 250 auf 500 g. Denn in diesem Falle war dem an zuckerbildenden und zuckerhaltigen Stoffen verarmten Körper eine neue Zuckerquelle zugeführt worden. Während also bei Loewi eher toxische, liegen bei meinen Versuchen physiologische Verhältnisse vor.

Eine nur mäßige Erhöhung der Zuckerausscheidung tritt nach 100 g Brot ein, die in bezug auf ihren Wert etwa 250 g Fleisch entsprechen; denn wenn auch die Zuckerdurchschnittswerte hier höher sind als nach Fleisch, so sind die Einzelwerte nur ganz wenig höher als die nach Fleisch erlangten oberen Werte. Ferner erscheint der Durchschnittswert der Brotversuche dadurch höher als derjenige der Fleischversuche, weil die ersteren innerhalb 3 1/4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme, die letzteren bis 15 Stunden nach der Nahrungsaufnahme angestellt sind. Bei den innerhalb 3 1/4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme vorgenommenen Fleischversuchen beträgt der Durchschnittszuckerwert 49,7 cg, so daß die Differenz nur 11 cg beträgt.

Die weit größten Zuckerzahlen zeigen sich nach Zufuhr von 50 g gelöster Dextrose, eine Dosis, die den anderen angewendeten entspricht. Der höchste erreichte Wert von 121 cg ist fast 3 mal so groß als der höchste Wert nach Fleisch. Auch bei Tier III ist die höchste Zuckerzahl fast doppelt so groß

nach Dextrose als nach Fleischnahrung in entsprechender Menge. Selbstverständlich sind vor den Phloridzinuntersuchungen Kontrolluntersuchungen mit 50 g Dextrose angestellt worden, die bei den beiden Versuchstieren keine alimentäre Glucosurie ergeben haben, während ein anderes Tier von den Dextroseversuchen ausgeschlossen wurde, weil 2 Stunden nach der Dextrosezufuhr Saccharum im Urin nachweisbar war.

Um festzustellen, ob die dem nüchternen Zustand gegenüber erhöhte Zuckerausscheidung nach 250 g Fleisch durch die Eiweißsubstanz oder durch den C-Hydratkern des Fleisches hervorgerufen wird, stellte ich einige Versuche mit C-hydratfreiem, reinem Eiweiß in der Form von Casein und der entsprechenden Dosis an. Auch hier waren die Zuckerwerte erhöht, wenngleich sie sich mehr in den unteren Grenzen der Werte nach Fleischnahrung bewegten und dementsprechend die Durchschnittswerte niedriger waren als nach Fleisch. Einen gewissen Einfluß hierauf hat vielleicht die Art der Zuckerzufuhr, die mit Schlundsonde erfolgen mußte.

Auch die Abhängigkeit sowohl des Eintritts als auch der Dauer der Zuckerreaktion vor der Nahrungsaufnahme ist evident und ungefähr im selben Sinne wie bei der ausgeschiedenen Gesamtzuckermenge. Der Beginn der Zuckerausscheidung findet bei den nüchternen Tieren und nach Butterzufuhr in 9 Versuchen 2 mal innerhalb 20 Minuten und 7 mal erst nach 25 Minuten, bei 25 Fleisch- resp. Caseinversuchen 21 mal innerhalb 20 Minuten und 4 mal zwischen 20 bis 25 Minuten, in 7 Dextroseversuchen 1 mal nach 22 Minuten und 6 mal innerhalb 20 Minuten statt.

Die Dauer der Saccharumausscheidung beträgt:

	Minuten	Im Durchschnitt Minuten
im nüchternen Zustand. .	27 bis 35	33,3 (für beide Zeilen)
nach 100 g Butter	35 „ 38	
„ 50 g Fleisch	30 „ 52	56,3 (für beide Zeilen)
„ 250 bis 500 g Fleisch	40 resp. 45 bis 90	
„ 100 g Brot	60 bis 90	70,0
„ 75 g Casein	52 „ 75	63,0
„ 50 g Dextrose . . .	40 resp. 52 bis 120	72,7

Am spätesten tritt also die Zuckerreaktion im nüchternen Zustande und nach Fettzufuhr ein, während nach den anderen

Nahrungsarten keine wesentlichen Unterschiede nach dieser Richtung hin zu verzeichnen sind. Ebenso hält die Saccharumausscheidung die kürzeste Zeit im nüchternen Zustand und nach Fett an; erheblich länger nach Fleisch, Casein, Brot, am längsten nach Dextrose. Während die höchste Zeitdauer nach Fleisch unter 21 Versuchen 1 mal 90 Minuten, betrug sie nach Dextrose unter 8 Versuchen 2 mal über 100 Minuten. Die Durchschnittszahl bei Dextrose ist etwas zu niedrig, weil Versuch 30 mitberechnet ist, der, wie später ausgeführt wird, wegen des langen Intervalls zwischen Nahrungsaufnahme und Versuch nicht mehr als Dextroseversuch in Betracht kommt. Ferner ist die Zuckerausscheidung bei Tier III relativ gering. Da bei den Fleischversuchen diejenigen an Tier III nur 10%, bei den Dextroseversuchen aber 25% der Gesamtversuche betragen, so ist natürlich hierdurch eine noch weitere Erniedrigung der Durchschnittsdauer der Zuckerausscheidung nach Dextrose berechnet worden. Vergleichen wir die Durchschnittszeitdauer der Zuckerausscheidung nach Fleisch und Dextrose bei Tier I, so erhalten wir 57,6 und 79 Minuten. Noch richtiger und besser ist der Vergleich der Durchschnittswerte innerhalb der ersten 3 Stunden nach der Fütterung. Wir erhalten dann für Fleisch 49,2 cg, für Zucker 120 cg.

Es ist somit die Tatsache festgestellt, daß der Phloridzindiabetes und der Diabetes mellitus, die beide in ihrem Wesen völlig verschieden sind, das eine gemeinsam haben, daß sie nach Dextrosezufuhr erheblich gesteigert sind; sie unterscheiden sich aber darin wieder wesentlich, daß beim Phloridzindiabetes diese Steigerung nur nach Dextrose, nicht aber nach anderen C-Hydraten von Bedeutung ist. Ferner steht die interessante Tatsache sicher, daß der Phloridzindiabetes, der doch allgemein als reiner Nierendiabetes aufgefaßt wird, auch noch von anderen, außerhalb der Nieren liegenden Bedingungen abhängig ist.

Die bisher genannten Bedingungen genügen indessen nicht zur völligen Erklärung der Differenzen in der Zuckerausscheidung nach Phloridzin; denn unter demselben Nahrungsregime von z. B. 250 g Fleisch kommen Schwankungen der ausgeschiedenen Gesamtzuckermenge zwischen 27,5 und 62 cg, nach 50 g Dextrose Schwankungen zwischen 55 und 171 cg vor. Es müssen also noch andere Verhältnisse dabei mitwirken.

Am nächsten liegt die Vermutung, daß die zu verschiedenen Zeiten nach der gleichen Fütterung vorgenommenen Versuche Unterschiede ergeben.

Nach 250 bis 500 g Fleischfütterung betragen die Durchschnittswerte der ausgeschiedenen Zuckermengen:

innerhalb der ersten	$1\frac{1}{2}$ Stunden nach der Fütterung	49,5 cg
„	$1\frac{1}{2}$ bis 3 „ „ „ „	48,9 „
„	3 „ 4 „ „ „ „	39,4 „
„	4 „ $6\frac{1}{2}$ „ „ „ „	35,7 „

Der niedrigste Zuckerwert von 27,5 cg tritt 12 Stunden nach der Fütterung auf.

Versuch 17 fällt mit seinem relativ hohen Wert von 45 cg Saccharum so aus dem Rahmen der übrigen Versuche heraus, daß hier irgendein besonderer Umstand, der mir unbekannt ist, mitspielen muß, vielleicht verzögerte Resorption.

Innerhalb der ersten 3 Stunden nach der Fleischzufuhr ist also die Zuckerausscheidung annähernd gleich und am stärksten; in den nächsten 3 Stunden sinkt sie um 25 bis 33%. Immerhin ist der Einfluß der Nahrung auf die Zuckerausscheidung auch noch nach 15 Stunden nachweisbar, so daß man auch auf die vorletzte Nahrungszufuhr noch einige Rücksicht nehmen muß. In der Tat ist der niedrigste Zuckerwert von 7 cg nach 50 g Fleisch bei Versuch 7 vorhanden, wo die vorletzte Fütterung 41 Stunden vorher geschah, während bei Versuch 6 und 8, wo die vorletzte Fütterung 18 resp. 24 Stunden vorher stattfand, die dreifache Zuckermenge ausgeschieden wurde. Ebenso fanden sich nach Dextrosefütterung unter sonst gleichen Bedingungen die höchsten Zuckermengen von 121 und 164 cg (Versuch 26 und 28) da, wo die vorletzte Fütterung vor 20 Stunden stattfand, während die erheblich niedrigeren Werte in den anderen Versuchen die vorletzte Fütterung vor 36 Stunden zur Voraussetzung hatten. Auch die Art der vorletzten Fütterung hat einen gewissen Einfluß, denn in den innerhalb 3 Stunden nach der Fleischfütterung vorgenommenen Versuchen waren die Durchschnittszuckermengen bei

vorletzter (17 Std.) Fleischnahrung . . . . 43 cg,
„ (17 bis 24 Std.) Charitéfutternahrung, bestehend aus vorwiegend Brot und Kartoffeln . . . . 55 cg.

Trotzalledem können auch diese Umstände keine vollkommene Klarheit geben, denn bei den beiden Versuchen (10 und 11), die nach ganz gleicher und gleichzeitiger vorletzter und letzter Fütterung vorgenommen wurden, waren die Zuckerwerte 33 und 54 cg, also sehr erheblich verschieden. Die Erklärung liegt offenbar in der Verschiedenheit der Resorption, die wohl zum Teil von der Stimmung und dem Appetit des Tieres abhängig ist; denn meist wurde das dargereichte Fleisch schnell und mit Appetit verzehrt, bisweilen aber erst nach längerem Zureden.

Es bleibt noch übrig, den Einfluß der Diurese auf die Zuckerausscheidung zu untersuchen. Es handelt sich in meinen Versuchen vorwiegend um Wasserdiurese. Die Tiere bekamen bei den Versuchen im nüchternen Zustande meist 300 bis 400 ccm Wasser 2 bis 3 Stunden oder unmittelbar vor der Phloridzininjektion, bei den Fleischversuchen 200 bis 300 ccm Wasser mit dem Fleisch zusammen, bei den Brot-, Dextrose- und Caseinversuchen je 200 bis 400 ccm Wasser mit der Nahrung gleichzeitig; trotzdem die zugeführte Wassermenge in den entsprechenden Versuchen meist gleich war, fiel die Diurese doch außerordentlich verschieden aus, z. B. bei Versuch 25 und 27. Die Ursache kann einerseits im Wassergehalt des Organismus, andererseits in den verschiedenen Resorptionsbedingungen liegen.

Vergleichen wir bei dem nüchternen Tier I (Versuch 1 bis 5) die Urinmengen mit den erhaltenen Zuckermengen, so hat es den Anschein, als ob ein Zusammenhang zwischen beiden besteht. Die weitaus größten Diuresewerte entsprechen den weitaus höchsten Zuckerzahlen. Indessen läßt sich bei den anderen Versuchen ein solches Verhalten nicht beobachten. Bei Versuch 10 und 11 haben wir unter gleichen Versuchsbedingungen 75 resp. 77 ccm Urin in 48 resp. 60 Minuten aufgefangen. Das wäre für die gleiche Zeitdauer berechnet für Versuch 11 eine um 20% schlechtere Diurese; trotzdem sind in Versuch 10 nur 33 cg, in Versuch 11 aber 54 cg Saccharum, also über die Hälfte mehr ausgeschieden. In Versuch 9 und 10 stehen bei annähernd gleichen Versuchsbedingungen die Diuresen, auf die gleiche Zeitdauer berechnet, im Verhältnis von 1 : 6, die ausgeschiedenen Zuckermengen aber im Verhältnis 1,7 : 1. In Versuch 13 ist die Diurese über 3 mal

so groß als in Versuch 14, die Zuckermengen jedoch sind gleich. Ähnliches zeigen Versuch 14 und 16, während bei Versuch 15 bei halb so starker Diurese $^1/_3$ mehr Saccharum sezerniert wurde als bei Versuch 13. In Versuch 13 ist die Diurese 3 mal so reichlich, die Zuckerabsonderung aber um $^1/_4$ geringer als in Versuch 18. Auch bei den Dextroseversuchen finden wir dasselbe. In den Versuchen 26 und 28 verhalten sich die Diuresen etwa wie 1 : 3, die Zuckerwerte aber sind fast gleich.

Es ergibt sich also aus den Versuchen zur Evidenz, daß die Größe der Wasserdiurese absolut ohne Einfluß auf die Größe der Zuckerausscheidung nach Phloridzin ist. Dieses Resultat stimmt völlig mit dem von Otto Loewi und E. Neubauer[1]) gefundenen Ergebnis überein. Die zu dem gegenteiligen Ergebnis führenden Versuche S. Webers[2]) haben keine Beweiskraft, denn wie Loewi mit Recht hervorhebt, ist in der zweiten Tabelle nach Injektion von 4,5 %iger NaCl-Lösung + 0,55 Phloridzin bei über doppelt so starker Diurese als nach Injektion 1 %iger NaCl-Lösung + 0,55 Phloridzin nur 3,7 g Sacch. mehr ausgeschieden, eine Zuckerdifferenz, die bei auseinanderliegenden Beobachtungen trotz gleichen Regimes die Regel ist. Eine solche Differenz verliert um so mehr an Bedeutung, wie ich gezeigt habe, wenn nicht vorher die gleiche Ernährung stattgefunden hat.

Ein gewisser Einfluß auf die Zuckerausscheidung scheint der Reaktion des Urins zuzukommen, aber nur, wenn dieselbe sehr stark ausgesprochen ist. Bei Versuch 25 finden wir bei schwach saurem Urin 88 cg Sacch., bei Versuch 27 unter ganz gleichen Umständen 57 g Sacch. bei alkalischem Urin. Ebenso differieren die Saccharumwerte bei Versuch 10 und 11 bei gleicher Versuchsanordnung und gleicher alkalischer Beschaffenheit fast um das Doppelte. Auffallend dagegen ist, daß bei Tier I der höchste Wert bei fünf Versuchen in nüchternem Zustande bei stark alkalischem Urin nach Zufuhr in 5 g Natr. bic. (Versuch 4) eintrat. Ebenso bei Versuch 21. Die vier Fleischversuche bei Tier I, die zwischen 4 und 6 Stunden nach der Fütterung vorgenommen wurden, ergaben Saccharumwerte von

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. **48**, 1902 und **59**, 1908.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. **54**, 1906.

30 bis 35 cg. Bei Versuch 21 dagegen wurde bei sehr stark alkalischem Urin nach Zufuhr von 10 g Natr. bic. 49,5 cg Sacch. ausgeschieden.

Es erübrigt noch, auf einen bereits in der Einleitung erwähnten Faktor zurückzukommen, nämlich auf den Einfluß des Körpergewichts auf die Phloridzinzuckerausscheidung. Aus meinen Versuchsresultaten ergibt sich, daß man Vergleiche zwischen verschiedenen Individuen derselben Art nur ziehen kann bei gleichen Ernährungsbedingungen.

So fand ich nach 0,001 g Phloridzin als ausgeschiedene Gesamtzuckermenge bei

	Gewicht	24—26 Stunden nüchtern		250 g Fleisch		50 g Dextrose	
		höchste Zahl cg	Durchschnittszahl cg	höchste Zahl cg	Durchschnittszahl cg	höchste Zahl cg	Durchschnittszahl cg
Hund 1	11,3	14	9,5	62	40,5	171	93,8
Hund 2	erheblich geringeres Gewicht genaue Zahl verloren	12,6	—	48	—	—	—
Hund 3	11,5	5	3,2	27	24	51	39
Hund 4 (nephritisch)	8,5	20	14	43	—	—	—

Es zeigt sich also, daß bei Hunden mit gleichem Gewicht unter gleichen Nahrungsverhältnissen die Phloridzin-Zuckerausscheidung um das Zwei- bis Dreifache verschieden ist (Hund I und III), ferner, daß ein leichteres Tier (Hund II und IV) ebenso viel, sogar auch mehr Zucker nach Phloridzin ausscheiden kann als ein schwereres Tier.

Auf diese Tatsache, daß die Größe der Zuckerausscheidung vom Gewicht des Tieres ganz unabhängig ist, und daß also bei Phloridzinversuchen verschiedene Hunde überhaupt nicht miteinander verglichen werden dürfen, ist meines Wissens bisher nirgends in der Literatur hingewiesen worden. Dagegen findet sich eine Reihe von Angaben in der Literatur, wo die Zuckerausscheidung auf 1 kg Tier berechnet und hieraus ein Schluß gezogen wird.

Wie lassen sich diese Tatsachen mit den bestehenden

Theorien über den Phloridzindiabetes in Einklang bringen? Zunächst ist die Erscheinung auffallend, daß die Vermehrung der Zuckerausscheidung besonders in den ersten 3 bis 4 Stunden nach der Nahrungsaufnahme geschieht, daß sie 12 bis 16 Stunden nach derselben nur noch relativ gering ist (vgl. Versuch 19, 30). Dieses Verhalten spricht entschieden gegen die von Biedl und Kolisch aufgestellte Theorie der primären extrarenalen Zuckerproduktion nach der Phloridzininjektion, die in der Leber vor sich gehen und dann zu einer Hyperglykämie führen sollte. Denn unter diesen Voraussetzungen würde die stärkste Zuckerausscheidung nach Phloridzin dann zu erwarten sein, wenn in der Leber der reichste Glykogenansatz vorhanden wäre. Karl Voit[1]) fand $7^1/_2$ bis 8 Stunden nach der Fütterung mit Traubenzucker sehr starke Glykogenanhäufung in der Leber, Murschhauser[2]) fand bei fast allen Zuckerarten den stärksten Glykogengehalt 16 Stunden nach der Fütterung. Bei meinen Dextroseuntersuchungen fand ich aber gerade nach den ersten $2^1/_2$ Stunden (Versuch 26, 28) die höchsten Zuckerwerte, den geringsten dagegen nach $15^1/_2$ Stunden (Versuch 30).

Auch mit der Theorie von Pavy, Brodie und Sian[3]), nach der die Nierenzellen aus den Kohlenhydratgruppen enthaltenden Eiweißkörpern des Blutes den Zucker abspalten, lassen sich die Ergebnisse meiner Versuche nicht recht in Einklang bringen. Denn die Tatsache, daß die stärkste Zuckerausscheidung nach Dextrosezufuhr geschieht, spricht für einfachere Verhältnisse, als eine Abspaltung des Zuckers aus den kohlenhydrathaltigen Eiweißkörpern des Blutes. Diese Tatsache spricht vielmehr für einen Zusammenhang mit dem augenblicklichen Zuckergehalt des Blutes. In den ersten Stunden nach Dextrosezufuhr entsteht eine starke Hyperglykämie, so daß den Nierenzellen direkt mit dem Blut eine größere Menge Zucker zugeführt wird. Unter dem Einfluß des Phloridzins scheiden nun die Nierenzellen, seien es die Parenchymzellen oder das Glomerulusendothel, sei es aktiv oder passiv eine um so größere Zuckermenge aus, je mehr Zucker ihnen vom Blute direkt angeboten wird.

---

[1]) Versuche über Glykogenbildung. Zeitschr. f. Biolog. 18, 1891.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. 139.

[3]) Journ. of Physiol. 29, 1903.

Hiermit stehen die Ergebnisse Wohlgemuths und Benzurs[1]) im Einklang, die gefunden haben, daß nach Phloridzininjektion der Diastasegehalt in den Nieren vermehrt ist. Man könnte sich den Vorgang so vorstellen, daß die Niere unter dem Einfluß der vermehrten Fermentproduktion die Fähigkeit verloren hat, die ihr zuströmende Blutzuckermenge als Glykogen in ihren Zellen abzulagern.

Es bleibt nur noch übrig zu beweisen, daß auch nach Fleischzufuhr der Zuckergehalt des Blutes steigt. Zu diesem Zweck habe ich nachfolgende Versuche unternommen. Bei den Versuchshunden wurden im nüchternen Zustand und verschiedene Stunden nach der Fleischnahrung ca. 5 ccm Blut jedesmal aus den Venen der Hinterbeine entnommen und auf Zucker untersucht. Diese Untersuchungen wurden von Herrn Dr. Karl Reicher mit Anwendung seiner Methode vorgenommen, dem ich für seine freundliche Mühewaltung meinen herzlichsten Dank ausspreche.

Hund I. Blutzuckergehalt.

Nüchtern 24 Std.	$2^1/_2$ Stunden noch 250 g rohes Rindfleisch
2. VII. 0,093 %	0,14 %
23. X. Nüchtern 17 Std.	4 Stunden noch 500 g rohes Rindfleisch
0,12 %	0,21 %

Kontrollversuch.

26. X. 0,09 %	0,20 %

Hund III.

Nüchtern 18 Std.	$3^1/_4$ Stunden noch 250 g rohes Rindfleisch
20. XI. 0,12 %	0,20 %
Nüchtern 18 Std.	$2^3/_4$ Stunden noch 250 g rohes Rindfleisch
25. XI. 0,09 %	0,15 %

Spitz mit chronischer Nephritis.

14. XII. Nüchtern 23 Std.	$3^1/_2$ Stunden noch 250 g rohes Rindfleisch
0,094 %	0,14 %

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß der Blutzuckergehalt bei Hunden $2^1/_2$ bis 4 Stunden nach Fütterung von 250 bis 500 g rohen Fleisches um 50 bis 100 % steigt.

[1]) Diese Zeitschr. **21**, 460, 1909.

Die Resultate meiner Versuche stimmen mit denen Erlandsens[1]) überein, der bewies, daß der Aderlaß auf der Höhe der Phloridzinwirkung eine bedeutend gesteigerte Zuckerausscheidung durch die Niere zur Folge habe, daß also bei genügendem Eliminationsvermögen der Niere unter dem Einfluß des Phloridzins ein höherer Blutzuckergehalt auch eine erhöhte Glucosurie nach sich ziehe. Jedenfalls lassen sich diese Ergebnisse am leichtesten mit der Eliminationstheorie erklären.

Die Zusammenfassung meiner Resultate ergibt folgendes:

1. Die Zuckerwerte nach Phloridzinjektion differieren oft um das Vielfache bei ein und demselben Tiere.

2. Die Größe der Zuckerausscheidung bei verschiedenen Hunden ist individuell ganz verschieden und unabhängig vom Körpergewicht.

3. Infolgedessen ist es nicht zulässig, aus dem Vergleich der Phloridzin-Zuckerausscheidung bei verschiedenen Hunden Schlüsse zu ziehen. Insbesondere ist die übliche Berechnung der Zuckerausscheidung pro Kilogramm Tier zu Vergleichszwecken unzulässig.

4. Um die Zuckerausscheidung unter verschiedenen Bedingungen zu studieren, müssen die Versuche stets am selben Tier angestellt werden.

5. Nach Injektion schon von 0,001 Phloridzin (1 mg) tritt bei gesunden Hunden stets Diabetes ein.

6. Zu quantitativen Harnuntersuchungen eignen sich männliche Hunde besser als weibliche, weil der Katheterismus mit geknöpftem Katheter leicht gelingt und die Anlegung der Blasenfistel für diese Zwecke überflüssig macht, und weil die Katheter bei Dauerversuchen in der männlichen Blase fest liegen, während sie bei weiblichen Tieren leicht aus der Blase herausrutschen.

7. Die Größe der Saccharumausscheidung ist am niedrigsten im nüchternen Zustande (20 bis 24 Stunden) und nach Fettzufuhr, stärker nach 50 g Fleischnahrung, erheblich stärker nach 250 g Fleischnahrung, steigt aber bei noch größeren Fleischgaben — dieselbe Phloridzindosis vorausgesetzt — nicht weiter. Nach Fütterung von Amylaceen ist die Zuckerauscheidung etwas höher als nach Fleisch in entsprechender Menge, am weitaus größten ist sie nach Dextrosezufuhr in entsprechender Menge

[1]) Diese Zeitschr. **1910**, 329.

(selbstverständlich ist das Fehlen alimentärer Glucosurie vorausgesetzt).

8. Auch nach kohlenhydratfreiem Eiweiß-Casein waren die Zuckerwerte höher als bei den Nüchternversuchen, im Durchschnitt aber niedriger als nach entsprechender Fleischzufuhr.

9. Der Eintritt der Zuckerreaktion erfolgt am spätesten im nüchternen Zustand und nach Fettnahrung, während er bei Eiweiß- oder Kohlenhydratfütterung früher eintritt, aber sich sonst in gleicher Weise bei beiden verhält.

10. Die Dauer der Zuckerreaktion währt am kürzesten im nüchternen Zustande und nach Fettzufuhr, am längsten nach Dextrose, bei den Amylaceen ebenso lange wie bei Fleisch.

11. Der Phloridzindiabetes hat mit dem Diabetes mellitus die Tatsache gemein, daß er nach Zufuhr von Dextrose erheblich gesteigert ist.

12. Die Zuckerausscheidung nach Phloridzin ist relativ am stärksten in den ersten drei Stunden nach der Fütterung, sie sinkt in den nächsten drei Stunden um 25 bis 33% und ist 12 bis 15 Stunden nach der Nahrungsaufnahme am niedrigsten, aber immer noch gegenüber dem nüchternen Zustande vermehrt.

13. Die Größe der Wasserdiurese ist ohne Einfluß auf die Größe der Saccharumausscheidung.

14. Bei sehr starker Alkalescenz des Urins, aber auch nur bei solcher, scheint die Saccharumausscheidung vermehrt zu sein.

15. Die Tatsache, daß die Zuckerausscheidung zur Zeit der stärksten Glykogenanreicherung in der Leber, also 12 bis 15 Stunden nach der Nahrungsaufnahme am niedrigsten ist, spricht gegen die Biedel-Kolische Theorie von der primären extrarenalen Zuckerproduktion in der Leber, mit nachfolgender Hyperglykämie.

16. Das Ergebnis, daß die stärkste Zuckerausscheidung nach Dextrose erfolgt, spricht für eine einfachere Erklärung des Phloridzindiabetes, als die von Pavy-Brodie-Sian gegebene, daß die Abspaltung des Zuckers aus kohlenhydrathaltigen Eiweißkörpern des Blutes erfolgt.

17. Die Resultate meiner Versuche stimmen mit denen Erlandsens überein und lassen sich am leichtesten mit der Eliminationstheorie erklären.

Zur Kenntnis der proteolytischen Wirkung der Takadiastase.

Von

Olga Szántó.

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Kgl. pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 7. Juni 1912.)

In Japan wird seit vielen Jahren statt Malz eine als Koji bezeichnete Substanz zur Verfertigung des Reisweins und anderer alkoholischen Getränke verwendet. Es ist dies eine Substanz, die aus dem Mycel verschiedener Pilze, hauptsächlich des Aspergillus oryzae, besteht und auf Reis gezüchtet wird. Das die Sporen enthaltende Material heißt Tane Koji. Das Mycelium des Aspergillus oryzae erzeugt während seines Wachstums auf geschälten und gedämpften Reiskörnern Diastase. Dies ist schon daraus zu entnehmen, daß der Pilz, auf Kleister von Reisstärke wachsend, diesen in kurzer Zeit in eine klare Flüssigkeit verwandelte. Wenn man letztere mit löslicher Stärke in Wasser zusammenbringt, bekommt man bei Verwendung von dünnen Stärkelösungen schon nach $^1/_2$ Stunde mit wässeriger Jodlösung keine Blaufärbung mehr. Mit Wasser erhält man aus Koji ein Extrakt, das besser diastatisch wirkt als das beste Malzextrakt. Durch Fällung des Extraktes mit Alkohol kann man eine konzentrierte Takadiastase gewinnen. Diese stellt ein gelblich-weißes, amorphes, geruchloses Pulver dar, von angenehmem Geschmack, leicht löslich in Wasser, nicht hygroskopisch. Sie verwandelt die 100fache Menge trockener Stärke in 10 Minuten in Zucker. Sie bildet ein Gemisch von verschiedenen chemischen Körpern, unter denen sich Kohlenhydrate und Proteinstoffe befinden. Die Kohlenhydrate sind nach den Untersuchungen von Wroblewski Pentosen, denn nach dem Erwärmen mit Salzsäure und Phloroglucin geben sie eine kirschrote Färbung. Sie enthält 44% Asche, in der

die Phosphorsalze überwiegen. Die Takadiastase besitzt aber außer dem diastatischen noch ein eiweißspaltendes Ferment. Dieses Ferment ist der Gegenstand meiner Untersuchungen gewesen. Die Wirkung dieses Fermentes hat eine gewisse Ähnlichkeit mit dem tryptischen Fermente der Bauchspeicheldrüse. Die Takadiastase ist zuerst von Atkinson[1]) beschrieben, dann von Kellner, Mori und Nagaoka[2]) und Busgen[3]). Wroblewski[4]) hat ihre Reindarstellung versucht. Nach den Untersuchungen von Wingrave ist sie gegen Salzsäure nicht so empfindlich wie Malz- und Speicheldiastase.

Für die Fermente ist es nun ganz allgemein bewiesen, daß ihre Wirkung in erster Linie von der Reaktion der umgebenden Flüssigkeit abhängig ist. Für das proteolytische Ferment des Pankreas, für das Trypsin, hat besonders T. Kudo[5]) die Reaktionsbedingungen bestimmt. Er untersuchte den Einfluß verschiedener Säuren, Alkalien, Salze und Kohlenhydrate auf das Trypsin und fand, daß die Wirkung des Trypsins am stärksten ist bei schwach alkalischer Reaktion. Säuren, Alkalien wie auch Salzlösungen hemmen aber in gewisser Konzentration die Wirkung.

In ähnlicher Weise versuchten wir die Wirkung dieser Substanzen auf das proteolytische Ferment der Takadiastase festzustellen. Die von uns angewandte Methodik war folgende: 10 Reagensgläschen wurden mit absteigender Menge der betreffenden Säure-, Alkali- oder Salzlösung beschickt, nachdem zuvor in jedes Gläschen 1,0 ccm destilliertes Wasser kam. Dann wurden zu jedem Gläschen 0,5 ccm einer bestimmten Fermentlösung und 2 ccm einer 1‰igen Caseinlösung zugefügt. Nun kamen die Gläschen in ein Wasserbad von 38 bis 39° und blieben dort 1 Stunde lang. Danach wurde die Wirkung des Fermentes geprüft durch Zusatz von Essigsäure-Alkohollösung. Diese bestand aus 1% Essigsäure + 50% absol. Alkohol + 49% Wasser. Von dieser Lösung wurden zu jedem

---

1) Atkinson, Transact. of the Chem. Soc. London 1881.

2) Kellner, Mori und Nagaoka, Zeitschr. f. physiol. Chem. 14, 297, 1890.

3) Busgen, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 3, 66, 1885.

4) Wroblewski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 2, 1132, 1898.

5) Kudo, diese Zeitschr. 15, 5 u. 6, 1909.

Gläschen 6 Tropfen zugefügt und nun beobachtet, in welchem Gläschen zuerst eine Trübung auftritt. Dieses erste, eine Trübung zeigende Gläschen bedeutet die untere Grenze der Verdauung und wird mit — bezeichnet, ebenso die nachfolgenden Gläschen. Die anderen dagegen, die nach dem Zusatz von essigsaurem Alkohol klar geblieben sind, in denen also das Casein ganz verdaut war, mit +.

Die gebrauchte Fermentlösung wurde folgendermaßen verfertigt: 1 g Takadiastase wurde in einem Kölbchen mit 50 ccm destilliertem Wasser versetzt und stark geschüttelt, bis sie sich gelöst hatte. Die Lösung ging in der Kälte ganz glatt vor sich. Alsdann wurde die gleiche Menge Glycerin. puriss. (50 ccm) zugefügt und durchgeschüttelt. Von dieser Standardlösung nahmen wir die 40fache Verdünnung. Um eine möglichst salzfreie $1\,^0/_{00}$ige Caseinlösung zu bekommen, lösten wir 1 g Casein in nur 5 ccm $^n/_{10}$-NaOH und neutralisierten mit 4,5 ccm $^n/_{10}$-HCl. Auf 100 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt, reagiert die Lösung neutral. Diese neutrale Reaktion war bei unseren Versuchen unbedingt erforderlich, da ja gerade der Einfluß schwach alkalischer Lösungen geprüft werden sollte. Die Versuche wurden sämtlich in einem Wasserbade von 38 bis 39° ausgeführt, das konstant auf gleicher Höhe gehalten wurde.

I. Einfluß der Säuren auf die Takadiastaseverdauung.

Bei der Wirkung der Säuren auf Takadiastase muß man zwei Momente scharf auseinanderhalten. Erstens muß man in Rechnung ziehen, daß die Gegenwart der Säure an sich die Verdauung hemmt, zweitens muß auch daran gedacht werden, daß sie wie beim Pankreastrypsin eine zerstörende Wirkung auf das Ferment ausüben kann. Demnach zerfallen auch unsere Versuche mit den Säuren in zwei Reihen: a) Hemmungsversuche, b) Zerstörungsversuche.

a) Hemmungsversuche.

Von Säuren untersuchten wir die Schwefelsäure, Salz-, Salpeter-, Essig-, Oxal-, Milch- und Buttersäure, und zwar verwandten wir sie bei unseren Versuchen in einer Konzentration $^1/_{10}$ normal resp. $^1/_5$ normal resp. $^1/_1$ normal.

Die Resultate dieser Versuche sind aus folgenden beiden Tabellen ersichtlich.

Tabelle I.
Anorganische Säuren.

Säuremenge	$^n/_{10}$-H_2SO_4	$^n/_{10}$-HCl	$^n/_{10}$-HNO_3
1. = 1,0	—	—	—
2. = 0,5	—	—	—
3. = 0,25	—	—	—
4. = 0,125	—	—	—
5. = 0,062	—	—	—
6. = 0,031	—	—	—
7. = 0,016	—	schwach trüb	—
8. = 0,008	+	+	+
9. = 0,004	+	+	+
10. = 0,002	+	+	+
11. = 0,001	+	+	+
12. = 0,0005	+	+	+
Grenze der Hemmung in %	0,0052	0,00377	0,00326
Grenze der Hemmung nach Kudo für Trypsin in %	0,0016	0,0023	—

Tabelle II.
Organische Säuren.

Säuremenge	n-Essigsäure	$^n/_{10}$-Oxalsäure	$^n/_5$-Milchsäure	$^n/_{10}$-Buttersäure
1. = 1,0	—	—	—	—
2. = 0,5	—	—	—	—
3. = 0,25	—	—	—	—
4. = 0,125	—	—	—	—
5. = 0,062	—	—	—	—
6. = 0,031	—	—(+)	—	—
7. = 0,016	—	+	—	—
8. = 0,008	—	+	—	+
9. = 0,004	—	+	+	+
10. = 0,002	—	+	+	+
11. = 0,001	+	+	+	+
12. = 0,0005	+	+	+	+
Grenze der Hemmung in %	0,004	0,01302	0,0048	0,00469
Grenze der Hemmung nach Kudo für Trypsin in %	0,0054	—	0,0082	0,008

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das proteolytische Ferment der Takadiastase sich Säuren gegenüber wesentlich anders verhält als das Trypsin des Pankreas. Es ist wohl auch empfindlich gegen anorganische Säuren wie das Trypsin, aber nicht in dem Maße, wie aus der Zusammenstellung der Hemmungsgrenzen für die einzelnen Säuren hervorgeht. Bei einem Vergleich derselben hat man den Eindruck, als ob die Takadiastase halb so empfindlich ist wie das Trypsin. Anders

dagegen gestalten sich die Verhältnisse bei den organischen Säuren. Gegen diese scheint die Takadiastase empfindlicher zu sein als das Trypsin. Denn bei Milchsäure sehen wir z. B., daß sie die Wirkung der Takadiastase schon in einer Konzentration von 0,0048 % hemmt, während das Pankreastrypsin erst in einer Konzentration von 0,0082 % hemmt.

b) Zerstörungsversuche.

Zur Prüfung der zerstörenden Wirkung der Säuren wurde folgende Versuchsanordnung gewählt: Von einer 2 %igen Fermentlösung kommen 5 ccm in ein Bechergläschen und werden mit 5 ccm $^n/_{50}$-H_2SO_4 versetzt. Davon kommen in 4 Reagensgläschen je 2 ccm. Gläschen 1 wird mit 1 ccm $^n/_{50}$-NaOH sofort neutralisiert, Gläschen 2 nach 30 Minuten, Gläschen 3 nach 60 Minuten, Gläschen 4 nach 120 Minuten. In das Kontrollgläschen kommen 1 ccm $^n/_{50}$-H_2SO_4, 1 ccm $^n/_{50}$-NaOH und 1 ccm der 2 %igen Fermentlösung. Solche Zerstörungsversuche wurden gemacht mit Schwefel-, Salz-, Essig- und Milchsäure. Die Resultate sind folgende:

Tabelle III.

Versuch mit $^n/_{50}$-H_2SO_4					
2 % Ferment	Kontrolle	0′	30′	60′	120′
1	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,031	+	+	+(–)	–	–
0,016	–	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–	–
0,004	–	–	–	–	–
0,002	–	–	–	–	–

Versuch mit $^n/_{20}$-H_2SO_4					
2 % Ferment	Kontrolle	0′	30′	60′	120′
1	+	+	–	–	–
0,5	+	+	–	–	–
0,25	+	+	–	–	–
0,125	+	–	–	–	–
0,062	+	–	–	–	–
0,031	+	–	–	–	–
0,016	–	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–	–

Versuch mit $^n/_{50}$-HCl					
2 % Ferment	Kontrolle	0′	30′	60′	120′
1	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+
0,031	+	+	+	+	+
0,016	–	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–	–

Versuch mit $^n/_{20}$-HCl				
2 % Ferment	0′	30′	60′	120′
1	+	+	–	–
0,5	+	–	–	–
0,25	+	–	–	–
0,125	+	–	–	–
0,062	+	–	–	–
0,031	+	–	–	–
0,016	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–

Tabelle III (Fortsetzung.)

Versuch mit $^n/_{20}$-Essigsäure						Versuch mit $^n/_{10}$-Essigsäure					
2% Ferment	Kontrolle	0'	30'	60'	120'	2% Ferment	Kontrolle	0'	30'	60'	120'
1	+	+	+	+	+	1	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+
0,031	+	+	+	+(–)	schwach	0,031	+	+	+(–)	–	–
0,016	–	–	–	–	–	0,016	–	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–	–	0,008	–	–	–	–	–

Versuch mit $^n/_{20}$-Milchsäure						Versuch mit $^n/_{20}$-Milchsäure					
2% Ferment	Kontrolle	0'	30'	60'	120'	2% Ferment	Kontrolle	0'	30'	60'	120'
1	+	+	+	+	+	1	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	0,5	+	+	+	+	+
0,25	+	+	+	+	+	0,25	+	+	+	+	+
0,125	+	+	+	+	+	0,125	+	+	+	+	+
0,062	+	+	+	+	+	0,062	+	+	+	+	+
0,031	+	+(–)	+(–)	+(–)	+(–)	0,031	+	+	schwach	–	–
0,016	–	–	–	–	–	0,016	–	–	–	–	–
0,008	–	–	–	–	–	0,008	–	–	–	–	–

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Takadiastase besonders durch Einwirkung anorganischer Säuren in hohem Maße leidet. Am stärksten zeigte sich die Einwirkung der Salzsäure. Da sehen wir, daß, wenn auch die Salzsäure in einer Konzentration von $^n/_{20}$ sofort nach Zusatz neutralisiert wurde, doch fast das ganze Ferment zerstört worden war. Das Trypsin dagegen erscheint nach den Versuchen von Kudo viel resistenter. Hier sehen wir, daß Zusatz von $^n/_{20}$-Salzsäure zu einer gut wirksamen Trypsinlösung diese noch lange nicht ihrer Wirksamkeit beraubt. Desgleichen sehen wir, daß auch die Schwefelsäure die Takadiastase stärker schädigt als das Trypsin.

Was die organischen Säuren anbetrifft, so ist ihre zerstörende Wirkung, trotzdem sie stärker hemmend wirken als die anorganischen Säuren, eine weit schwächere. So sehen wir also beispielsweise, daß die Essigsäure, die eine außerordentlich stark hemmende Wirkung gezeigt hatte, bezüglich ihres zerstörenden Einflusses fast wirkungslos ist. Ganz ähnliche Verhältnisse finden wir bei der Buttersäure und Milchsäure. Die beiden Wirkungen Hemmung und Zerstörung gehen also nicht parallel.

II. Einfluß der Alkalien.

Für das Pankreastrypsin hatte Kudo gefunden, daß die Alkalien im geringeren Maße im hemmenden Sinne ihren Einfluß geltend machen. Unsere Versuche ergeben dagegen teils eine stärkere Resistenz, teils eine stärkere Empfindlichkeit gegen Alkalien, wie aus folgenden Tabellen ersichtlich ist.

Tabelle IV.

Alkalimenge	$^n/_{10}$-NaOH	$^n/_{10}$-Na_2CO_3	$^n/_{10}$-KOH	$^n/_{10}$-K_2CO_3	$^n/_{10}$-$H_4N(OH)$	$^n/_{10}$-$Ba(OH)_2$
1	—	—	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	+	—
0,25	—	—	schwach	+schwach	+	—
0,125	schwach	—	+	+	+	—
0,062	+	schwach	+	+	+	+
0,031	+	+	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+	+	+
0,008	+	+	+	+	+	+
0,004	+	+	+	+	+	+
0,002	+	+	+	+	+	+
Grenze der Hemmung in %.	0,033	0,0441	0,0936	0,2305	0,053	0,1315
Grenze der Hemmung n. Kudo f. Trypsin in %	0,0118	0,09	—	—	—	—

Wir ersehen hieraus, daß die hemmende Wirkung von NaOH und Soda bei der Takadiastase fast die gleiche ist. Beim Trypsin dagegen wirkt die Natronlauge weit intensiver als die Na_2CO_3-Lösung.

Am wenigsten schädigend für die Takadiastase ist K_2CO_3. Es zeigt erst in ca. 6fach stärkerer Konzentration eine hemmende Wirkung, als das Na_2CO_3.

Hieraus kann man mit großer Wahrscheinlichkeit schließen, daß die schädigende Wirkung des Na_2CO_3 auf der Wirkung des Na-Ions beruht.

III. Einfluß verschiedener Salze.

Bezüglich des Einflusses der Salze auf die Takadiastase verfuhr ich genau wie Kudo, indem ich die den anorganischen und organischen Säuren entsprechenden Salze in den Kreis der

Untersuchungen zog. Von den erstgenannten wählte ich Na_2SO_4, $NaCl$, Na_3PO_4, $Na_2S_2O_3$, $NaNO_3$, $CaCl_2$, KNO_3, $BaCl_2$, $NaNO_2$, $MgSO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, K_2SO_4, K_3PO_4, NH_4Cl, MgCl, KaCl, NaJ, KJ, NaBr, NaFl. Von den entsprechenden organischen Säuren wurden folgende verwandt: Essigsaures Na, buttersaures Na, milchsaures Na, oleinsaures Na.

Zunächst lasse ich, ohne auf weitere Einzelheiten einzugehen, die entsprechenden Tabellen folgen.

Tabelle V.

Salzmenge	n-$Na_2S_2O_3$	n-$MgSO_4$	n-$(NH_4)_2SO_4$	$^n/_{10}$-K_2SO_4	$^n/_{10}$-$CaCl_2$	$^n/_{10}$-$BaCl_2$	n-NH_4Cl	n-NaFl
1	—	—	—	—	—	—	—	—
0,5	—	—	—	—	—	—	—	—
0,25	—	—	—	—	—	—	—	—
0,125	—	—	—	—	schwach	—	—	—
0,062	—	—	—	+	+	—	+(—)	—
0,031	—	—	+	+	+	—	+	—(+)
0,016	—	+	+	+	+	+(—)	+	+
0,008	schwach	+	+	+	+	+	+	+
0,004	+ (—)	+	+	+	+	+	+	+
0,002	+ (—)	+	+	+	+	+	+	+
Grenze der Hemmung in %.	0,06621	0,50964	0,2732	0,0726	0,0924	0,0252	0,2229	0,0870
Grenze der Hemmung n. Kudo f. Trypsin in %	—	0,057	0,25	0,55	0,019	0,03	0,33	—

Na_2SO_4, $NaCl$, Na_3PO_4, $NaNO_3$, KNO_2, $NaNO_2$, KCl, NaJ, KJ, NaBr, ergaben in den angewandten Konzentrationen ($^n/_{10}$ bis $^n/_1$) bei der Untersuchung gar keine Hemmung.

Aus der Tabelle geht hervor, daß die neutralen Salze das proteolytische Ferment der Takadiastase nur wenig oder überhaupt nicht beeinflussen. Dieser Einfluß machte sich geltend nur im Sinne einer Hemmung, allerdings einer sehr schwachen Hemmung.

Vergleichen wir das Resultat mit dem von Kudo am Trypsin des Pankreas ermittelten, so sehen wir, daß dieses weit intensiver durch neutrale Salze beeinflußt wird als die Takadiastase. Eine Hemmung zeigte sich nur in den Fällen bei der Takadiastase, wo sie bei dem Trypsin besonders stark

war. Sie blieb aber vollkommen aus bei all den Salzen, die auf das Trypsin nur einen schwachen Einfluß ausübten.

Diese Salze, die wir, um Raum zu sparen, hier nicht in einer großen Tabelle wiedergeben wollen, sind: Na_2SO_4, NaCl, $NaNO_3$, $NaNO_2$, KCl, JNa, JK, NaBr.

Bei all diesen Salzen hatte Kudo eine deutlich hemmende Wirkung feststellen können. Nur in dem Fall, wo das K_2SO_4 in verhältnismäßig starker Konzentration (0,55) auf das Trypsin hemmend wirkte, wurde die Takadiastase schon bei einer 7 mal schwächeren Konzentration (0,0726 %) in seiner Wirkung gehemmt.

Für die Salze der organischen Säuren gilt das gleiche wie für die anorganischen.

Tabelle VI.

Salzmenge	n/1-Essigsaures Na	11 % Buttersaures Na	10 % Milchsaures Na	n/10-Oleinsaures Na
1	+	Spur	—	—
0,5	+	+	—	—
0,25	+	+	—	—
0,125	+	+	—	—
0,062	+	+	—	schwach trüb
0,031	+	+	—(+)	+
0,016	+	+	+	+
0,008	+	+	+	+
0,004	+	+	+	+
0,002	+	+	+	+
Grenze der Hemmung in % . .	4,4	4	0,31	0,126
Grenze der Hemmung n. Kudo für Trypsin . .	0,76	0,36	0,82	0,0097

Wir sehen auch hier, daß die Takadiastase weit schwächer von ihnen beeinflußt wird als das Trypsin. Doch haben wir auch hier eine Ausnahme, und zwar bei milchsaurem Na. Bei diesem ist die hemmende Wirkung auf die Takadiastase fast 3 mal so stark, wie auf das Pankreastrypsin.

Einfluß der Kohlenhydrate.

Auch gegenüber den Kohlenhydraten zeigt die Takadiastase ein von dem Pankreas verschiedenes Verhalten. Untersucht wurden: Dextrose, Lävulose, Lactose, Stärke.

Vergleichen wir die gefundenen Resultate mit den von Kudo für das Pankreastrypsin ermittelten, so sehen wir, daß von allen Kohlenhydraten nur die Lävulose eine hemmende Wirkung hatte, die anderen ohne jeden Einfluß geblieben waren. Für die Kohlenhydrate trifft aber die bei den Salzen ermittelte Regel nicht zu, daß die auf das Trypsin am stärksten wirkenden Substanzen auch die Takadiastase am stärksten beeinflussen. Denn Kudo fand die stärkste Hemmung bei der Stärke, wir bei der Lävulose.

Tabelle VII.

Kohlenhydratmenge	n-Lävulose	n-Dextrose	n-Lactose	5 % Stärke
1	–	+	+	+
0,5	–	+	+	+
0,25	–	+	+	+
0,125	+(–)	+	+	+
0,062	+	+	+	+
0,031	+	+	+	+
0,016	+	+	+	+
0,008	+	+	+	+
0,004	+	+	+	+
0,002	+	+	+	+

Analog den Versuchen mit Säuren wurde ermittelt, ob auch Alkalien, außer ihrer hemmenden Wirkung, einen zerstörenden Einfluß auf das proteolytische Ferment der Takadiastase haben. Von Kudo war für das Trypsin festgestellt worden, daß es gegenüber den Alkalien verhältnismäßig recht resistent ist. Die Versuche wurden so angestellt, daß eine stark proteolytische Takadiastase-Lösung (10%) hergestellt wurde und je 4 ccm in 2 Reagensgläschen übertragen wurden. Zu dem einen Gläschen wurde 1 ccm NaOH zugefügt und nach $^1/_2$ Stunde langem Stehen bei Zimmertemperatur das Alkali durch Zusatz von 1 ccm $^n/_{10}$-HCl genau neutralisiert. Zu dem zweiten, als Kontrolle dienenden Röhrchen wurde eine Mischung von 1 ccm $^n/_{10}$-NaOH + $^n/_{10}$-HCl zugefügt und nun mit beiden Fermentlösungen die Trypsinbestimmung in der üblichen Weise ausgeführt. Das Resultat ist aus folgender Tabelle ersichtlich:

Tabelle VIII.

Fermentmenge	Zerstörungs-versuch mit $^{n}/_{10}$-NaOH vorbehandelt	Kontrolle unvorbehandelt
1. = 1,0	+	+
2. = 0,5	+	+
3. = 0,25	+	+
4. = 0,125	+	+
5. = 0,062	—	—
6. = 0,031	—	—
7. = 0,016	—	—
8. = 0,008	—	—
9. = 0,004	—	—
10. = 0,002	—	—

Aus der Tabelle geht hervor, daß eine Zerstörung des proteolytischen Fermentes nicht stattgefunden hat. Ein Versuch mit Na_2CO_3 in dieser Richtung erschien überflüssig, da die viel stärker alkalisch wirkende NaOH sich als gänzlich unschädlich erwiesen hat. Das Verhalten des proteolytischen Fermentes der Takadiastase gegenüber der NaOH ist also das gleiche, wie das des Trypsins.

Nun hatte Wohlgemuth[1]) festgestellt, daß das proteolytische Ferment der Takadiastase ebenso wie es bei neutraler und alkalischer Reaktion wirkt, auch bei saurer Reaktion eine verdauende Wirkung äußert. Man konnte daran denken, daß die Wirkung bei saurer Reaktion auf der Gegenwart eines pepsinähnlichen Fermentes beruht. Die Entscheidung, ob diese Vermutung zutrifft oder nicht, erbrachte ich auf Vorschlag von Herrn Prof. Wohlgemuth folgendermaßen.

Wir wissen, daß das Pepsin gegen Alkali außerordentlich empfindlich ist. Es genügt schon eine gut wirksame Pepsinlösung auf wenige Minuten mit Alkali zusammenzubringen, um sie ihrer Wirksamkeit vollständig zu berauben. Neutralisiert man eine solche alkalische Pepsinlösung und säuert sie gleich hinterher mit Salzsäure an, so gelingt es nicht mehr, wirksames Pepsin in ihr nachzuweisen. Anders liegen die Verhältnisse, wenn man, wie Tichomiroff[2]) gezeigt hat, eine stark alkalische Pepsinlösung neutralisiert und bei neutraler Reaktion $^{1}/_{2}$ bis 1 Stunde lang bei Zimmertemperatur stehen läßt. Dann ge-

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 39, 3 bis 4, 1912.

[2]) Tichomiroff, Zeitschr. f. physiol. Chem. 55, 107, 1908.

lingt es nach Zufügung ausreichender Menge von HCl in einer solchen Lösung Pepsin nachzuweisen.

Hiernach war also der Weg für die Entscheidung, ob die Takadiastase ein pepsinähnliches Ferment enthält oder nicht, gegeben. — Man mußte eine Takadiastase-Lösung mit NaOH alkalisch machen, bei Zimmertemperatur stehen lassen, mit HCl neutralisieren und nun das Gemisch in zwei Teile, a und b, teilen. Portion a mußte sofort mit $^n/_{10}$-HCl auf eine Acidität von 30 gebracht und mit ihr sogleich die Edestinprobe ausgeführt werden. Portion b mußte bei neutraler Reaktion $^1/_2$ bzw. 1 Stunde bei Zimmertemperatur stehen, dann erst angesäuert und mit ihr die Edestinprobe ausgeführt werden.

In der eben geschilderten Weise wurde von mir verfahren. Das Resultat war, daß die Takadiastaselösung, nach der Behandlung mit Alkali, ihre Wirksamkeit bei saurer Reaktion, gemessen mit der Edestinprobe, in keiner Weise geändert hatte. Daraus erübrigte sich die weitere Untersuchung der Takadiastase in dem von Tichomiroff angegebenen Sinne. Es hat sich also gezeigt, daß in der Takadiastase ein dem Pepsin ähnliches Ferment nicht enthalten ist.

Die Untersuchungen haben somit neben vielen Unterschieden ergeben, daß auch manche Ähnlichkeit zwischen dem Trypsin und der proteolytischen Wirkung der Takadiastase besteht. Auf eine solche Ähnlichkeit hat auch bereits Wohlgemuth in seinen Untersuchungen über die Takadiastase hingewiesen, denn er hatte gefunden, daß ebenso wie das Trypsin, auch die Takadiastase durch Serum der verschiedensten Tiere gehemmt wird. Er hatte ferner nachgewiesen, daß Takadiastase auch ein erepsinähnliches Ferment, wie das Pankreas besitzt, und daß dieses Erepsin ebenso wie das Pankreaserepsin durch die Gegenwart von Serum gefördert wird. Wesentlich anders dagegen als das Trypsin verhielt sich die Takadiastase den Peptiden gegenüber. Denn es ergab sich, daß die Takadiastase wohl imstande ist Glycyl-l-tryptophan zu zerlegen, daß hingegen Glycyltyrosin und Seidenpepton von ihr in keiner Weise angegriffen wurden, während, wie wir wissen, das Trypsin die beiden letztgenannten Produkte mit Leichtigkeit spaltet.

Zusammenfassung.

Im ganzen sind also die Resultate meiner Untersuchungen folgende:

1. Säuren vermögen die Wirkung der Takadiastase schon in sehr geringer Konzentration zu schädigen. Dabei hat sich herausgestellt, daß die anorganischen Säuren die Takadiastase viel weniger angreifen als das Trypsin.

Den organischen Säuren gegenüber ist wieder die Takadiastase viel empfindlicher.

2. Neben dieser hemmenden Wirkung besitzen die Säuren auch eine zerstörende Kraft auf die Takadiastase. Hier zeigt sich die Wirkung der Salzsäure am stärkten; beim Trypsin dagegen ist ihre zerstörende Wirkung eine viel geringere.

3. Die organischen Säuren besitzen nur eine sehr schwache zerstörende Wirkung, trotzdem sie stark hemmen.

4. Die Alkalien hemmen im allgemeinen viel weniger als die Säuren. Im Vergleiche mit Pankreastrypsin ergeben die Resultate teils stärkere, teils schwächere Empfindlichkeit.

5. Zerstörende Kraft besitzen die Alkalien nicht.

6. Die Salze hemmen das proteolytische Ferment der Takadiastase in seiner Wirkung nur sehr wenig, oder überhaupt nicht. Dem Einfluß neutraler Salze gegenüber zeigt sich die Takadiastase viel indifferenter als das Pankreastrypsin. So z. B. sind NaCl, Na_2SO_4, $NaNO_3$, auf Takadiastase wirkungslos, während sie bei dem Trypsin eine Hemmung geben. Genau dasselbe sehen wir bei den Salzen der organischen Säuren. Eine Ausnahme bildet nur das milchsaure Natrium. Diese übt auf Takadiastase eine fast 3 mal so starke Wirkung aus als auf Trypsin.

7. Dextrose, Milchzucker und Stärke haben auf Takadiastase gar keine Wirkung. Lävulose dagegen bewirkt eine schwache Hemmung.

In welcher Weise wird die Weinsäure durch Hefe angegriffen?

Von

L. Karczag.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(*Eingegangen am 5. Juni 1912.*)

Über die Gärung der Alkalisalze der verschiedenen Weinsäuren resp. über deren verschieden starker Zerstörung durch Hefe wurde von mir bereits berichtet[1]). In den unten mitgeteilten Versuchen habe ich das Verhalten der freien d-Weinsäure zur Hefe untersucht und die entstehenden Produkte zu charakterisieren gestrebt.

Zunächst seien über die Gärungsdauer der angestellten Proben folgende Angaben gemacht.

Ich habe bereits bei meinen obenerwähnten früheren Versuchen beobachtet, daß die freien Säuren wochen-, ja monatelang im Brutschranke gelassen werden konnten, ohne irgendeine Spur von Fäulnis aufzuweisen. Die Kalisalze der Weinsäuren dagegen gingen schon in kurzer Zeit in eine übelriechende, schleimige Gärung über. Es wurden ganze Reihen von Gärungsproben mit der freien d-Weinsäure und mit den Reinzuchthefen D und K angesetzt, und keine einzige von ihnen faulte selbst nach 2 bis 3 monatlichem Verweilen im Brutschranke bei 38°. Diese Tatsache zeugt also dafür, daß die im Gärgut befindlichen Produkte nicht einer Fäulnis ihre Entstehung verdanken. Jede der angestellten Proben ließ schon nach einigen Tagen einen Geruch nach flüchtigen Fettsäuren wahrnehmen; die Hefe setzte sich zu Boden und veränderte allmählich die Weinsäure, was sich in den auf-

[1]) L. Karczag, diese Zeitschr. 38, 516, 1912.

steigenden Kohlensäurebläschen kundgab; zugleich färbte sich die Gärflüssigkeit braungelb.

Die Untersuchung des Gärgutes auf die entstandenen Produkte wurde an mehreren Proben vorgenommen; als Beispiel möchte ich folgenden Versuch anführen.

1 l 1%ige d-Weinsäurelösung wurde mit 20 g Reinzuchthefe D 10 Wochen lang im Brutschranke stehen gelassen. — Nach Verlauf dieser Frist wurde die Flüssigkeit zunächst dekantiert, darauf filtriert und sodann die eine Hälfte nach Hinzufügen von Schwefelsäure im Dampfstrom destilliert, die andere Hälfte erschöpfend mit Äther extrahiert; der Ätherauszug wurde schließlich verdunstet.

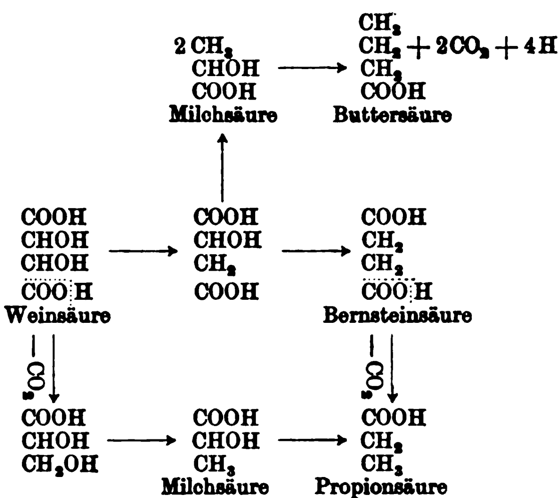
Das Destillat gab positive Reaktionen auf flüchtige Fettsäuren. Nach Analyse der Kalksalze ist ein wechselnd zusammengesetztes Gemisch von Propionsäure und Buttersäure anzunehmen. Diese beiden Säuren geben sich auch durch den charakteristischen Geruch und den ihrer Äthylester zu erkennen. Zu den Feststellungen war eine größere Menge Substanz nötig, weshalb die Destillate verschiedener Ansätze gesammelt und dann auf einmal aufgearbeitet wurden. Es genügt jedoch die bei der Destillation eines Ansatzes erhaltene Quantität zur Anstellung der qualitativen Proben.

Der Ätherabdampfrückstand gab positive Reaktionen auf: Milchsäure mit

1. Jod- und Kalilauge,
2. nach Uffelmann,
3. nach Fletscher und Hopkins,

und auf Bernsteinsäure nach Neuberg (Pyrrolreaktion).

Nach diesen Befunden wäre also denkbar, daß die Gärung der d-Weinsäure nach folgendem Schema verläuft:



Ferner wurden für die Anwesenheit von Acetaldehyd Anzeichen gefunden. Die Riminische Nitroprussidnatriumprobe fiel zwar nicht regelmäßig positiv aus. Die Entstehung von Aldehyd ist theoretisch sehr wohl möglich, und zwar aus Weinsäure selbst wie Milchsäure, wobei als Zwischenglieder Oxalessigsäure und Brenztraubensäure auftreten könnten. Der genetische Zusammenhang zwischen Milchsäure und Brenztraubensäure ist eine bekannte chemische Tatsache, so z. B. wird die Brenztraubensäure durch nasc. Wasserstoff leicht in Milchsäure übergeführt. — Andererseits wurde von Neuberg und mir[1]) die Entstehung des Aldehyds aus Brenztraubensäure durch Hefencarboxylase festgestellt.

Bei der langen Versuchsdauer muß man sowohl an ein Abdunsten des Aldehyds (Siedep. 21°) im Brutschranke bei 38° denken, als auch an sekundäre Veränderungen und Synthesen.

Eine Entstehung des Aldehyds aus Weinsäure ließe sich theoretisch verstehen, und ich hoffe, diesen nach Vergären größerer Mengen von Weinsäure zu isolieren.

Es muß nochmals bemerkt werden, daß die isolierten Substanzen keinesfalls Produkte einer Fäulnis, sondern einer Hefewirkung sind. — Diese Produkte lassen sich auch in Proben nachweisen, die 5 bis 10 Tage lang im Brutschranke belassen sind; das lange Stehenlassen der Proben bis 8 bis 12 Wochen bezweckt nur, eine bessere Ausbeute an den entstandenen Produkten zu erhalten. Die quantitativen Zahlen sind recht schwankend, das prozentuale Verschwinden der Weinsäure beträgt 30 bis 50%. Die Bestimmung geschah in Form des sauren Kaliumsalzes.

Nach den oben dargelegten Befunden und Ausführungen ist wohl anzunehmen, daß die Wirkung der Hefe auf Weinsäure vorwiegend in Reduktionsprozessen besteht.

---

[1]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 68, 1911.

Über den Lipoidgehalt des Blutes normaler und schwangerer Frauen sowie neugeborener Kinder.

Von

Edmund Herrmann und **Julius Neumann.**

(Aus dem Laboratorium der L. Spiegler-Stiftung in Wien.)

(Eingegangen am 6. Juni 1912.)

Vor einem Jahre haben wir in unseren Beiträgen zur Biologie der weiblichen Keimdrüse[1]) berichtet, daß sich in der physiologischen Gravidität vom 3. Monat an die chemische Beschaffenheit des Blutes ändere, und zwar progredient bis an das Schwangerschaftsende. Unsere Untersuchungen hatten das Resultat ergeben, daß es sich in der normalen Schwangerschaft des menschlichen Weibes um eine Anreicherung des Blutes mit fettartigen Substanzen, im besonderen um eine Vermehrung von Cholesterinverbindungen handle, um einen Zustand also, den man als Lipoidämie zu bezeichnen hat.

Bald nach dem Erscheinen unserer Mitteilung erfuhren unsere Beobachtungen eine Bestätigung auf Grund einer anderen Methode von seiten französischer Autoren, Chauffard, Laroche und Grigaut[2]), die die Cholesterinvermehrung colorimetrisch nachweisen.

Die durch unsere s. Z. angegebene Methodik erzielten Resultate lieferten ein anschauliches Bild über die Schwankungen der in Betracht kommenden Substanzen resp. über die quantitativen Differenzen zwischen den untersuchten Blutarten. Heute wollen wir genaue Werte über den Lipoidgehalt im Blute normaler und schwangerer Frauen, sowie neugeborener Kinder auf Grund einer exakt chemischen Analyse mitteilen,

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1911, 24. Jahrg., Nr. 12.

[2]) L'obstétrique, Mai 1911.

So wie zu unseren ersten Untersuchungen benutzten wir auch zu diesen das Gesamtblut. Zur Lipoidextraktion aus dem Blute standen uns verschiedene Methoden zur Verfügung, z. B. die von S. Fraenkel und A. Elfer[1]) für Serum angegebene Methode zur Entwässerung und Extraktion von Lipoiden: Hierbei wird das Serum mit wasserfreiem Natriumsulfat im Verhältnis von 100:66 verrieben und dadurch entwässert. Die dabei entstehende feste Masse wird sodann pulverisiert und im Soxhletapparate mit Petroläther durch mehrere Tage extrahiert. Für die Lipoiddarstellung aus Gesamtblut hat sich das Festmachen mit Glaubersalz nach unseren Versuchen nicht bewährt. Das gleiche gilt für die Natriumphosphatmethode[2]), die wir versuchsweise benutzt haben.

Auch die von K. Hürthle[3]) angegebene Methode zur Isolierung von Cholesterinestern aus Serum schien uns für Untersuchungen des Gesamtblutes nicht geeignet, da wir nicht nur die Cholesterinester, sondern die Gesamtlipoide des Blutes darstellen wollten und es sich nicht nur um die Darstellung, sondern auch um die quantitative Bestimmung für unsere Zwecke handelte.

Wir bedienten uns bei unseren Untersuchungen des folgenden Verfahrens:

Das mit Porzellankugeln geschüttelte, gewogene Blut wird in seiner Gesamtheit im Verhältnis von 1:10 mit 95%igem Alkohol versetzt, wiederholt geschüttelt und nach 24 Stunden abfiltriert; der Rückstand mit absol. Alkohol nachgewaschen, ausgepreßt und durch 2 Tage im Soxhletapparat einer Petrolätherextraktion unterworfen.

Das filtrierte alkoholische Extrakt wird im Vakuum sehr stark eingeengt und in einem automatischen Extraktionsapparat für Flüssigkeiten durch 24 Stunden ebenfalls einer Petrolätherextraktion unterzogen. Die so gewonnenen petrolätherischen Extrakte werden vereinigt, eingeengt und bei einer Tempe-

---

[1]) Diese Zeitschr. 28, 330, 1910.

[2]) S. Fraenkel und A. Elfer, diese Zeitschr. 40, 138, 1912. Siehe darüber S. Fraenkel: Darstellung von Lipoiden im Gehirn und anderen Geweben in Abderhaldens Handb. der biochem. Arbeitsmeth. 5, I. Th., S. 613, 1911.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 21, 331, 1895.

ratur von 15° auf ein bestimmtes Volumen mit Petroläther eingestellt. Davon wurden nun aliquote Teile der petrolätherischen Lösung zu quantitativen Analysen verwendet.

Bestimmung der gesamten Fett- und Lipoidmenge im Blute Hochgravider.

5 l retroplacentaren Blutes wurden nach der oben beschriebenen Methode verarbeitet und mit der Bestimmung der Gesamtfett- und Lipoidmenge begonnen. Ein Teil des bei einer Temperatur von 15° auf eine bestimmte Menge eingestellten petrolätherischen Extraktes wurde in ein vorher gewogenes, geschliffenes Wägegläschen gebracht, der Petroläther langsam abgedampft und der Rückstand bei 105° zur Konstanz getrocknet und gewogen. Auf diese Weise ermittelten wir als Gesamtfett- und Lipoidmenge im Blute Hochgravider resp. Gebärender **7,8 g** in 1 kg Blut.

Bestimmung von Cholesterin und Cholesterinester im Blute Hochgravider.

Der behufs Bestimmung der Gesamtfett- und Lipoidmenge zur Konstanz getrocknete Petrolätherrückstand wird nun nach der Methode von A. Windaus[1]) in heißem 95 %igem Alkohol gelöst, die Lösung filtriert und in heißem Zustande mit heißer 1 %iger Digitoninlösung im Überschusse gefällt. Nach völligem Erkalten des Gemisches wird so lange Digitoninlösung zugesetzt, bis die Fällung als komplett bezeichnet werden kann. Die entstandene Fällung, das Digitonincholesterid, wird auf einen getrockneten und gewogenen Goochtiegel filtriert und nach Trocknung zur Konstanz das Gewicht des Digitonincholesterids bestimmt. Die so erhaltene Zahl, durch 4 dividiert, gibt die Menge des im Blute vorhandenen freien Cholesterins an. In 1 kg Blut Hochgravider resp. Gebärender fanden wir **0,8346** g freies Cholesterin.

Das Filtrat der Digitoninfällung, das zur Bestimmung von Cholesterinester dient, wird auf dem Wasserbade eingeengt und sodann mit Petroläther und Wasser in einen Scheidetrichter gespült. Hierzu kommt noch der im Wägegläschen und am Filter zurückgebliebene alkoholunlösliche Anteil des

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 110, 1910.

Petrolätherrückstandes. Durch wiederholtes Ausschütteln mit frischen Petrolätherportionen wurden die im Petroläther löslichen Substanzen herausgelöst, die petrolätherische Lösung abfiltriert und sodann der Petroläther abdestilliert. Der Rückstand, in dem nunmehr die Cholesterinester enthalten sind, wird in Alkohol gelöst und mit Natriumäthylat verseift. Das frei gewordene Cholesterin wird im Scheidetrichter abermals mehrfach mit Petroläther extrahiert, der Petroläther abgedampft und der Rückstand in Alkohol aufgenommen. Die alkoholische Lösung wird in heißem Zustande mit heißer 1%iger Digitoninlösung gefällt. Nach kompletter Fällung wird das Digitonincholesterid auf einen Goochtiegel filtriert, getrocknet und gewogen. Die so ermittelte Zahl, durch 4 dividiert, ergab die Menge der in 1 kg Blut Hochgravider resp. Gebärender enthaltenen Cholesterinester in Form von durch Verseifung frei gewordenen Cholesterins. Als Durchschnittszahl fanden wir **0,9708** g Cholesterin in Form von Cholesterinester in 1 kg Blut. Auf Palmitinsäure-Cholesterinester berechnet, entspricht diese Zahl **1,5752** g in 1 kg Blut.

Bestimmung der Phosphatide im Blute Hochgravider.

Zur quantitativen Bestimmung der Phosphatide wurde in einer bestimmten Menge des Petrolätherextraktes der P-Gehalt nach Neumann bestimmt. Wir hatten 1000 ccm petrolätherische Lösung aus 5 kg Blut. Davon wurden zur Analyse verwendet 25 ccm. Bei der P-Bestimmung wurden verbraucht 20,3 ccm $^{n}/_{2}$-Natronlauge, entsprechend 0,0257404 g P_2O_5 oder 0,0112259 g P. Daher in 1 kg Blut 0,0898072 g P. Auf Lecithin berechnet wären demnach in 1 kg Blut Hochgravider resp. Gebärender **2,2451** g vorhanden.

N-Bestimmung der Gesamtlipoide im Blute Hochgravider.

Von 1000 ccm Petrolätherlösung aus 5 kg Blut wurden für die Bestimmung nach Kjeldahl 25 ccm verwendet. Gefunden wurden 5,8 $^{n}/_{10}$-Lauge, entsprechend N, d. i. 0,00812 g N resp. in 1 kg Blut **0,06496** g N.

Das Verhältnis von P:N = 1:1,55 bei den Gesamtphosphatiden.

Bestimmung des Fettes und der Lipoide im normalen Frauenblut.

600 g Gesamtblut von normalen, im Menstruationsintervalle befindlichen Frauen wurden auf gleiche Weise, wie bei der Untersuchung des Blutes Gravider angegeben, verarbeitet. Wir erzielten folgendes Resultat: In 1 kg Normalblut beträgt die Gesamtfettmenge einschließlich der Lipoide 5,9 g. An freiem Cholesterin finden sich in 1 kg Normalblut 0,8641 g. Die Menge von Cholesterin in Form von Cholesterinestern beträgt 0,5755 g oder als Palmitinsäure-Cholesterinester berechnet 0,9322 g in 1 kg Normalblut.

Im Petrolätherextrakt aus 107 g Blut wurde gefunden bei der P-Bestimmung nach Neumann:

Verbraucht wurden 18,39 ccm $^{n}/_{2}$-Lauge, entsprechend 0,01331852 g P_2O_5 oder 0,01016967 g P. Es enthält der Petrolätherextrakt aus 1 kg Blut daher 0,124472 g P_2O_5 oder 0,095043 g P. Als Lecithin berechnet waren in 1 kg Normalblut 2,3760 g enthalten.

Gesamt-N-Gehalt des Petrolätherextraktes.

Aus 107 g Blut hergestellter Petrolätherextrakt enthielt N nach Kjeldahl bestimmt: Die Differenz zwischen Lauge und Säure entsprach 3,9 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge, d. i. 0,00546 g N oder auf 1 kg Blut berechnet 0,05103 g.

Das Verhältnis zwischen P : N ist daher 1 : 1,19.

Bestimmung des Fettes und der Lipoide im Blute Neugeborener.

600 g Blut Neugeborener (Nabelschnurblut) wurden verarbeitet. Die Gesamtfettmenge einschließlich der Lipoide beträgt 4,365 g für 1 kg Blut. Das freie Cholesterin beträgt 0,7811 g in 1 kg Blut. Der Gehalt an Cholesterin in Form von Cholesterinestern entspricht 0,1413 g oder als Palmitinsäure-Cholesterinester berechnet 0,2288 g pro 1 kg Blut.

P-Bestimmung.

Der aus 150 g Blut gewonnene Petrolätherextrakt gab bei der P-Bestimmung nach Neumann einen Verbrauch von 22,21 ccm $^{n}/_{2}$-Lauge, entsprechend 0,02816228 g P_2O_5 oder 0,01228213 g P. Daher in 1 kg Blut 0,1877485 g P_2O_5 oder

0,0818808 g P. Als Lecithin berechnet entspricht die gefundene Menge P 2,047020 g pro 1 kg Blut.

N-Bestimmung.

Im Petrolätherextrakt aus 150 g Blut wurde der N bestimmt. Gefunden wurde N entsprechend 5,8 $^{n}/_{10}$-Lauge, d. i. 0,00812 g N oder auf 1 kg Blut 0,05413 g N.

Das Verhältnis zwischen P und N ist daher wie 1 : 1,5.

Die folgende Tabelle zeigt vergleichend die bei den drei untersuchten Blutarten gefundenen Werte:

Blutart	Gesamt-Fettmenge	Freies Cholesterin	Esterförmig gebundenes Cholesterin	Als Cholesterin-palmitat ber.	P	Als Lecithin berechnet	N	Neutralfett
Hochgravide Frauen . .	7,8	0,8346	0,9708	1,5725	0,0898072	2,245180	0,06496	3,15
Normale Frauen . .	5,9	0,8641	0,5755	0,9322	0,0950430	2,376075	0,05103	1,75
Neugeborene Kinder . .	4,365	0,7811	0,1418	0,2288	0,0818808	2,047020	0,05413	1,30

Die eben angegebenen Zahlen sind Durchschnittszahlen, gewonnen aus größeren Blutquantitäten. Die aus 100 bis 200 ccm gewonnenen Werte von Einzelfällen Hochgravider stellen sich, namentlich bei Mehrgebärenden, viel höher.

Blutart	Gesamt-Fettmenge	Freies Cholesterin	Esterförmig gebundenes Cholesterin	Als Cholesterin-palmitat ber.
Hochgravide Frau	8,2	0,8523	1,1610	1,8806
Hochgravide Frau	8,814	0,8685	1,2208	1,9770

Wenn wir das Verhältnis der einzelnen Bestandteile des Blutes zueinander in den untersuchten Blutsorten betrachten, so ergeben sich folgende Unterschiede:

Blutart	Gesamt-Fettmenge g	Davon in %			
		Freies Cholesterin	Ester	P	Neutralfett
Hochgravide Frauen	7,8	10,8	20,1	28,8	40,3
Normale Frauen . .	5,9	12,9	15,8	40,3	29,3
Neugeborene Kinder	4,365	17,2	5,2	47,6	30,0

Auf Trockensubstanz berechnet sind enthalten in 1 kg Blut von:

a) hochgraviden Frauen 4,02 °/₀ Gesamt-Fett- und Lipoidmenge;

b) normalen Frauen 3,04 °/₀ Gesamt-Fett- und Lipoidmenge;

c) neugeborenen Kindern 1,73 °/₀ Gesamt-Fett- und Lipoidmenge.

Auf Trockensubstanz berechnet finden sich in 1 kg Blut von:

Blutart	Cholesterinester °/₀	Neutralfett °/₀
a) Hochgraviden Frauen . .	0,81	1,62
b) Normalen Frauen	0,43	0,90
c) Neugeborenen Kindern . .	0,12	0,66

Die prozentuale Durchschnittszunahme der vermehrten Substanzen im Blute Hochgravider beträgt:

an Cholesterinestern . . . 68,6 °/₀,
an Neutralfett . . . . . . 80,0 °/₀.

Die prozentuale Zunahme an Cholesterinestern in Einzelfällen beträgt bis zu 102, resp. 111 °/₀.

Es zeigt sich demnach, daß sowohl die **Cholesterinfette** als auch die **Glycerinfette** im Blute **Gravider** eine Vermehrung erfahren haben, während die Menge der Phosphatide in den untersuchten drei Blutsorten unverändert geblieben ist. In einer weiteren Arbeit wird die Bedeutung dieser Verhältnisse gewürdigt werden.

Der restliche Anteil des Petroläthers wurde zur qualitativen Phosphatidbestimmung und zur Identifizierung der Cholesterinester verwendet.

Der Petroläther wird unter hohem Vakuum und bei einer Temperatur von 35° bis auf $^1/_{20}$ seines Volumens abgedampft und dann mit Aceton gefällt. Es entsteht ein brauner Niederschlag. Das Aceton wird abgegossen, der Niederschlag in Petroläther gelöst und der Petroläther eingeengt, worauf auf Zusatz von absolutem Alkohol ein Körper ausfällt, der nach seiner Analyse und seinen physikalischen Eigenschaften als Kephalin anzusprechen ist. Durch wiederholtes Lösen in Petroläther und abermaliges Fällen mit absolutem Alkohol wurde die Substanz für die Analyse gereinigt. F. = 167°.

Zur P-Bestimmung des Kephalins wurden 0,3766 g Substanz eingewogen und die Bestimmung nach Neumann ausgeführt: Verbraucht wurden 16,9 ccm $^n/_2$-Natronlauge, entsprechend 0,0093457 g P, d. i. 2,40 %.

Zur N-Bestimmung wurden 0,1445 g Substanz genommen. Gefunden wurde eine 1,4 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechende N-Menge, d. i. 1,35 % N.

Das Verhältnis von P : N = 1 : 1,2.

Im abfiltrierten Alkohol der Kephalinfraktion wird auf Zusatz von abs. alkoh. ammoniak. Bleilösung Myelinblei ausgeschieden. Das Filtrat wird mit abs. alkoh. Salzsäure tropfenweise so lange versetzt als Blei ausfällt. Das Filtrat wird nun neutral eingeengt, und da im Rückstand kein Blei mehr enthalten ist, mit der vierfachen Menge Aceton gefällt. Es fällt ein Körper aus, der auf Grund seiner Analyse und seiner physikalischen und chemischen Eigenschaften als Lecithin angesehen werden muß. Das Aceton wird abgegossen und der Körper wiederholt mit reinem Aceton gewaschen.

P-Bestimmung des Lecithins: 0,2100 g Substanz geben nach Neumann P entsprechend 16,5 $^n/_2$-Natronlauge, d. i. 0,0091245 g P oder 4,345 %.

Zur N-Bestimmung wurden 0,1541 g Substanz eingewogen. Nach Kjeldahl bestimmt, wurde gefunden N entsprechend 2,2 ccm $^n/_{10}$-Lauge, d. i. 0,00308 g N oder 1,998 %.

Das Verhältnis von P : N = 0,986 : 1.

Die im Aceton enthaltenen Cholesterine, Cholesterinester und Fette werden in heißem, 95 %igem Alkohol gelöst, mit heißer Digitoninlösung gefällt und heiß filtriert. Auf dem Filter bleiben die Digitonincholesteride, während im Filtrate die Ester ausfallen. Die ausgefallenen Ester werden abfiltriert, die Mutterlaugen eingeengt und die neuerlichen Krystallisationen ebenfalls abfiltriert. Die Ester wurden nun nach Hürthle (l. c.) aus Äther umkrystallisiert. Der feste Ester hatte F. = 80°. Ein Teil der Ester wird in abs. Alkohol aufgenommen und mit Natriumäthylat verseift. Ausholen des Cholesterins mit Petroläther, Abfiltrieren und Vertreiben des Petroläthers. Der Rückstand wird aus heißem, 85 %igem Alkohol umkrystallisiert und getrocknet. Die getrocknete Substanz gibt den Schmelzpunkt 147° und erweist sich demnach als reines Cholesterin.

Nach Ausholung des Cholesterins aus den verseiften Estern wird die wässerige Flüssigkeit mit 10%iger Schwefelsäure behandelt und mit Äther ausgeschüttelt. Der Äther wird abfiltriert und verdampft. Der Rückstand aus 85%igem, siedendem Alkohol gibt nach der Trocknung F. = 62° und erweist sich demnach als Palmitinsäure. Folglich war unsere Substanz Palmitinsäure-Cholesterinester. Sie zeigte F. = 80° in reinem Zustande, während Hürthle F. zwischen 70° und 80° gefunden hat.

Es ist nun nicht gelungen, den Ölsäure-Cholesterinester, der sicherlich in der übrigbleibenden Fettmasse enthalten war, auf irgendeine Weise von den Glycerinfetten zu trennen. Aber es waren in den Glycerinfetten noch reichliche Mengen von Cholesterinfetten enthalten, die ihre Anwesenheit durch das Auftreten aller Cholesterinreaktionen verrieten.

Zusammenfassung.

Die Lipoide des kindlichen, weiblichen und hochgraviden Blutes differieren stark in bezug auf die Menge von Cholesterinestern und Neutralfett. In der Gravidität besteht gegenüber der Norm nicht nur eine Vermehrung an Cholesterinestern (Cholesterinesterämie), sondern auch eine Zunahme von Neutralfett (Lipämie). Beim Neugeborenen hingegen findet sich gegenüber der erwachsenen Frau sowohl ein geringerer Gehalt an Cholesterinestern, als auch an Neutralfett. Der Phosphatidgehalt ist in allen drei Blutsorten nahezu der gleiche.

Unsere Untersuchungen beziehen sich auf das Gesamtblut. Über die Verhältnisse im Serum orientieren sie nur insoweit, als das Serum der Träger der Cholesterinester, die Körperchen die Träger des Cholesterins sind.

Über eine quantitative Methode zur Bestimmung der Saccharose im Harne neben allen anderen Zuckerarten.

Von

Adolf Jolles.

(Aus dem chemisch-mikroskopischen Laboratorium von Dr. M. und Prof. Dr. A. Jolles in Wien.)

(Eingegangen am 10. Juni 1912.)

In meiner Abhandlung „Zur Kenntnis des Zerfalles der Zuckerarten“[1]) habe ich den Nachweis erbracht, daß mit Ausnahme des Rohrzuckers alle Mono- und Disaccharide (Dextrose, Lävulose, Invertzucker, Maltose, Galactose, Arabinose, Lactose und Rhamnose) einen starken Rückgang der Drehung des polarisierten Lichtes in 0,01 n-Natronlauge zeigen.

Weitere Versuche lehrten, daß in 0,1 n-Natronlauge die erwähnten Zuckerarten in 1 bis 2%igen Lösungen nach 24stündigem, ununterbrochenem Stehen im Trockenschranke bei ca. 37 bis 38° optisch inaktiv werden, während Saccharose vollkommen unverändert bleibt.

Um die Reaktionsgeschwindigkeit zu vergrößern, wurden auch Versuche im Lintnerschen Druckfläschchen und am Rückflußkühler unter den verschiedensten Bedingungen durchgeführt.

Die Resultate lassen sich dahin zusammenfassen, daß bei Erhitzen ca. 2%iger Lösungen von Mono- und Disacchariden, mit Ausnahme der Saccharose, die Drehung nach 3/4 stündigem Kochen auf Null sinkt. Saccharoselösungen zeigen in beliebiger Konzentration keine Veränderung. Auf Grund dieser Tatsachen habe ich eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Saccharose neben anderen Zuckerarten ausgearbeitet. Ich habe diese Methode in der „Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genußmittel sowie der Gebrauchsgegenstände“[2])

---

[1]) Diese Zeitschr. **29**, 152—201, 1910.

[2]) Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung der Saccharose neben anderen Zuckerarten. Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel **20**, 631, 1910.

publiziert und Beleganalysen für ihre Anwendbarkeit bei einigen Nahrungs- und Genußmitteln (Süßwein, Himbeersaft, kondensierte Milch, Marmelade) erbracht.

Bardach und Silberstein haben meine Methode nachgeprüft und die Resultate bestätigt[1]).

Es war nun von Interesse, diese Methode auch in Harnen zu erproben. — Zu diesem Zwecke war zunächst zu untersuchen, wie sich dextrosehaltige Harne gegen Alkali unter den gewählten Bedingungen verhalten.

Ich habe zunächst in bekannter Weise den Zuckergehalt verschiedener Harne bestimmt. Sodann wurden zu je 100 ccm Harn 2,5 ccm einer $^{4n}/_{1}$-Natronlauge hinzugesetzt. Hierauf wurde die Probe in ein Glaskölbchen gebracht, dicht verkorkt und ohne Unterbrechung 24 Stunden in einem Thermostaten auf 37 bis 38° erhitzt. Dann wurde erkalten gelassen, mit 2 bis 3 Tropfen konzentrierter Essigsäure abgestumpft, bzw. ganz schwach sauer gemacht, im Zuckerkölbchen in bekannter Weise mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1 : 10) aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert. Zur Bestimmung der Drehung bediente ich mich eines Halbschattenapparates von Soleil-Ventzke.

Nachstehende Tabelle enthält die Resultate, wobei die Rubrik „Verdünnung" angibt, ob der Harn unverdünnt oder verdünnt mit den erwähnten Mengen destillierten Wassers verwendet wurde.

Tabelle.

Laufende Nummer	Dextrosegehalt in Prozenten	Polarisation vor d. Versuchen in Graden Ventzke	Polarisation nach 24stünd. Stehen im Thermost. b. 37° in Graden V.	Verdünnung	Bemerkungen
Harnprobe 1	3,0	+ 4,2	— 0,2	1 : 1	
„ 2	1,2	+ 3,5	— 0,1	unverdünnt	
„ 3	0,5	+ 1,4	— 0,2	„	
„ 4	2,9	+ 4,1	— 0,2	1 : 1	
„ 5	5,3	+ 4,9	— 0,4	1 : 2	
„ 6	2,7	+ 3,8	— 0,2	1 : 1	
„ 7	5,1	+ 4,7	— 0,2	1 : 2	

[1]) Über das auf Alkalieinwirkung beruhende Verfahren der polarimetrischen Zuckerbestimmung nach Jolles. Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 21, 1911

Tabelle (Fortsetzung).

Laufende Nummer	Dextrosegehalt in Prozenten	Polarisation vor d. Versuchen in Graden Ventzke	Polarisation nach 24stünd. Stehen im Thermost. b. 37° in Graden V.	Verdünnung	Bemerkungen
Harnprobe 8	3,2	+ 4,5	— 0,2	1 : 1	
„ 9	0,4	+ 1,2	0,0	unverdünnt	
„ 10	5,8	+ 5,4	— 0,5	1 : 2	Aceton, Acetessigsäure, β-Oxybuttersäure vorhanden
„ 11	0,3	+ 1,0	— 0,2	unverdünnt	
„ 12	4,4	+ 6,1	— 0,3	1 : 1	
„ 13	3,1	+ 4,3	— 0,2	1 : 1	
„ 14	4,3	+ 6,0	— 0,2	1 : 1	
„ 15	0,25	+ 0,7	— 0,1	unverdünnt	
„ 16a	1,5	+ 4,2	+ 2,4	„	Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure vorhanden, reich an Ammonsalzen
„ 16b	1,5	+ 2,1	— 0,6	1 : 1	
„ 17a	1,3	+ 3,6	+ 2,7	unverdünnt	Aceton u. Acetessigsäure vorhanden, reich an Ammonsalzen
„ 17b	1,3	+ 1,8	— 0,3	1 : 1	
„ 18	0,8	+ 2,8	— 0,1	unverdünnt	
„ 19	3,9	+ 5,5	— 0,3	1 : 1	Aceton vorhanden, Acetessigsäure nicht vorhanden
„ 20	1,0	+ 2,8	— 0,2	unverdünnt	
„ 21	3,8	+ 5,3	— 0,3	1 : 1	
„ 22	0,75	+ 2,1	— 0,2	unverdünnt	
„ 23	1,5	+ 4,2	— 0,1	„	
„ 24	0,5	+ 1,4	— 0,1	„	
„ 25	3,67	+ 5,1	— 0,2	1 : 1	
„ 26	4,3	+ 6,0	— 0,2	1 : 1	
„ 27	0,61	+ 1,7	— 0,3	unverdünnt	
„ 28	3,7	+ 5,2	— 0,3	1 : 1	
„ 29	2,6	+ 3,6	— 0,2	1 : 1	
„ 30	3,1	+ 4,3	— 0,2	1 : 1	
„ 31	3,9	+ 5,5	— 0,2	1 : 1	
„ 32	1,0	+ 2,8	— 0,3	unverdünnt	Aceton vorhanden, Acetessigsäure nicht vorhanden
„ 33	1,1	+ 3,1	— 0,3	„	
„ 34	2,3	+ 3,2	— 0,2	1 : 1	Spuren von Aceton
„ 35a	0,5	+ 1,4	+ 1,0	unverdünnt	Reich an Ammonsalzen
„ 35b	0,5	+ 0,7	— 0,1	1 : 1	
„ 36	3,5	+ 4,9	— 0,3	1 : 1	
„ 37	3,8	+ 5,3	— 0,2	1 : 1	
„ 38	2,9	+ 4,0	— 0,3	1 : 1	
„ 39	0,36	+ 1,0	— 0,2	unverdünnt	
„ 40	2,7	+ 3,8	— 0,3	1 : 1	

Tabelle (Fortsetzung).

Laufende Nummer	Dextrosegehalt in Prozenten	Polarisation vor d. Versuchen in Graden Ventzke	Polarisation nach 24stünd. Stehen im Thermost. b. 37° in Graden V.	Verdünnung	Bemerkungen
Harnprobe 41a	0,68	+ 1,9	+ 1,0	unverdünnt	Reich an Ammonsalzen
" 41b	0,68	+ 0,9	− 0,2	1 : 1	
" 42	0,46	+ 1,3	− 0,2	unverdünnt	
" 43	1,1	+ 3,1	− 0,2	"	
" 44	1,0	+ 2,8	− 0,3	"	
" 45	2,5	+ 3,5	− 0,2	1 : 1	
" 46	0,7	+ 2,0	− 0,3	unverdünnt	
" 47	3,9	+ 5,5	− 0,6	1 : 1	Aceton, Acetessigsäure und β-Oxybuttersäure vorhanden
" 48a	1,4	+ 3,9	+ 1,0	unverdünnt	Reich an Ammonsalzen, Aceton vorhanden
" 48b	1,4	+ 1,95	− 0,2	1 : 1	

Aus der Tabelle ergibt sich folgendes:

Durch die Behandlung mit verdünntem Alkali sinkt die Polarisation der Harne auf den Wert von durchschnittlich — 0,3° V.

Die Ausnahmen hiervon werden gesondert besprochen werden. Wovon diese schließlich entstehende negative Drehung herstammt, kann nicht mit voller Sicherheit entschieden werden. Einen gewissen Beitrag hierzu liefert jedenfalls die minimale negative Enddrehung, die Bardach und Silberstein[1]) unter bestimmten Versuchsbedingungen bei der Dextrose beobachtet haben. Der Hauptsache nach dürfte sie aber von Aminosäuren oder sonstigen Spaltungsprodukten der Harnsubstanzen durch das Alkali herstammen. Wenn dieser Wert nicht erreicht wird — und zwar seien zunächst jene Fälle betrachtet, wo keine Saccharose im Harn vorliegt —, so können, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, zwei Umstände diese verursachen.

1. Gehalt des Harns an β-Oxybuttersäure, die ja bekanntlich linksdrehend ist. In diesem Falle ist die Methode nicht anwendbar, bzw. wäre erst brauchbar, wenn die β-Oxybuttersäure eliminiert werden könnte (vgl. Nr. 10, 16 und 47).

[1]) Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 21, 1911.

2. Der Harn enthält reichliche Mengen von Ammonsalzen, durch die das zugesetzte Alkali gebunden wird; wie ich in dieser Zeitschrift gezeigt habe[1]), wirkt Ammoniak auf die Zucker unvergleichlich schwächer als die Alkalien; infolgedessen wird in Gegenwart reichlicher Mengen von Ammonsalzen die Inaktivierung der Zucker so langsam vor sich gehen, daß nach 24 stündigem Stehen das Ende der Reaktion noch nicht erreicht ist. Dieser Übelstand, der sich z. B. in Nr. 16, 17, 35, 41 und 48 der Tabelle findet, kann dadurch behoben werden, daß zum Versuche der Harn verdünnt wird, so daß die Alkalimenge lange hinreicht. Die Bestimmung bei Verdünnung mit der gleichen Menge Wasser ist immer verläßlich. Wenn man also von jenen Fällen absieht, wo β-Oxybuttersäure vorhanden ist, und sich durch einen zweiten Versuch mit einem verdünnten Harn überzeugt, ob die zugesetzte Alkalimenge ausreichend war, so kann man aus der Drehung mit Sicherheit erkennen, ob in dem Harn Saccharose enthalten ist oder nicht. Hierbei wäre zu berücksichtigen, daß die normale Enddrehung $-0{,}2°$ bis $-0{,}3°$ V. ist.

Nachdem mir kein Harn zur Verfügung stand, der zweifelsohne saccharosehaltig war, habe ich die Richtigkeit und Anwendbarkeit der Methode bei Harnen auf folgendem Wege geprüft:

Zu einem Harn, dessen Enddrehung klein ($-0{,}1°$ V.) war, wurden verschiedene Mengen von Dextrose und Saccharose hinzugesetzt und sodann die Bestimmung in der eingangs beschriebenen Weise vorgenommen. — Die Ergebnisse sind folgende:

1. 6 g Dextrose und 2 g Saccharose wurden in 100 ccm Harn gelöst. 50 ccm dieser Lösung wurden mit 5 ccm $^{4n}/_1$-NaOH versetzt und dann mit Normalharn auf 200 ccm aufgefüllt. Nach 24 stündigem Stehen im Thermostaten bei 37° wurden 50 ccm Harn im Zuckerkölbchen 50/55 mit 5 ccm Bleiessig aufgefüllt und polarisiert.

Polarisation nach 24 Std.	$+1{,}70°$ V.	
Dazu $^1/_{10}$-Verdünnung	$+1{,}87°$ V.	
Weil 4 fache Verdünnung	$+7{,}48°$ V.	
Entsprechend	2,08 %	Saccharose
Gefunden	2,08 %	„
Vorhanden	2,00 %	„

[1]) A. Jolles, Einwirkung von Ammoniak und von Natriumcarbonat auf verschiedene Zuckerarten in verdünnter wässeriger Lösung. Diese Zeitschr. 32, 97.

2. 3 g Dextrose + 1 g Saccharose in 100 ccm Harn gelöst. 50 ccm dieses Harns + 2,5 ccm $^{4n}/_1$-NaOH mit Normalharn auf 100 ccm aufgefüllt und dann wie bei 1 behandelt.

Polarisation nach 24 Std.	+ 1,80° V.
+ $^1/_{10}$-Verdünnung	+ 1,98° V.
Zweifache Verdünnung	+ 3,96° V.
Gefunden	1,10 % Saccharose
Vorhanden	1,00 % „

3. 15 g Dextrose und 7,5 g Saccharose wurden in 500 ccm Harn gelöst (Lösung A).

100 ccm der Lösung A, enthaltend 3 g Dextrose und 1,5 g Saccharose, wurden mit 5 ccm $^{4n}/_1$-NaOH versetzt und mit Normalharn auf 200 ccm angefüllt und wie in Versuch 1 angegeben behandelt.

Polarisation nach 24 Std.	+ 2,40° V.
+ $^1/_{10}$-Verdünnung	+ 2,64° V.
Entsprechend	0,73 % Saccharose
2fache Verdünnung, somit:	
Gefunden	1,46 % „
Vorhanden	1,50 % „

4. 100 ccm der Lösung A mit 7,5 ccm $^{4n}/_1$-NaOH versetzt, mit Harn auf 300 ccm aufgefüllt und wie bei 1 behandelt.

Polarisation nach 24 Std.	+ 1,70° V.
+ $^1/_{10}$-Verdünnung	+ 1,87° V.
Entsprechend	0,503 % Saccharose
3fache Verdünnung, somit:	
Gefunden	1,509 % „
Vorhanden	1,500 % „

5. 100 ccm von der Lösung A mit 12,5 ccm $^{4n}/_1$-NaOH versetzt, mit Harn auf 500 ccm aufgefüllt und wie bei Versuch 1 behandelt.

Polarisation nach 24 Std.	+ 1,00° V.
+ $^1/_{10}$-Verdünnung	+ 1,10° V.
Entsprechend	0,305 % Saccharose
5fache Verdünnung, somit:	
Gefunden	1,525 % „
Vorhanden	1,500 % „

6. 1 g Lactose + 1 g Saccharose wurden in ca. 80 ccm Harn gelöst, 2,5 ccm $^{4n}/_1$-Natronlauge hinzugefügt und mit Harn auf 100 ccm aufgefüllt.

Polarisation nach 24 Std.	+ 3,40° V.
+ $^1/_{10}$-Verdünnung	+ 3,74° V.
Gefunden	1,04 % Saccharose
Vorhanden	1,00 % „

7. Zu einem konzentrierten zuckerfreien Harn wurde 1 % Saccharose hinzugefügt, $^n/_{10}$-alkalisch gemacht und 24 Stunden bei 37° im Thermostaten stehen gelassen.

Polarisation vor dem Einstellen in den Thermostaten . . . . $+3{,}55^{\circ}$ V.
Polarisation nach 24 Std. . . . . $+3{,}55^{\circ}$ V.

Nach 24stündigem Stehen im Thermostaten wurde invertiert.
Polarisation nach der Inversion . . . . $-1{,}20^{\circ}$ V.

8. Derselbe Versuch wie bei 7 nur mit 2% Saccharose.

Polarisation vor dem Einstellen in den Thermostaten . . . . $+7{,}00^{\circ}$ V.
Polarisation nach 24 Std. . . . . $+7{,}00^{\circ}$ V.

Nach 24stündigem Stehen im Thermostaten wurde invertiert.
Polarisation nach der Inversion . . . . $-2{,}50^{\circ}$ V.

9. In 200 ccm Harn eines 3%igen Dextroseharns wurden 2 g Saccharose gelöst, $^{2}/_{10}$-alkalisch gemacht und 24 Stunden bei 37° im Thermostaten stehen gelassen.

Polarisation nach 24 Std. . . . . $+3{,}50^{\circ}$ V.
$+ {}^{1}/_{10}$-Verdünnung . . . . $+3{,}85^{\circ}$ V.
Entsprechend . . . . 1,074% Saccharose
Vorhanden . . . . 1,0% „

Dieser Versuch zeigt, daß auch 3%ige Dextroseharne auf 0° zurückgehen, was durch mehrere Kontrollversuche bestätigt wurde.

Im allgemeinen geht aus den Versuchen hervor, daß die Anwesenheit der Harnsubstanzen auf die Bestimmung in keiner Weise schädlich einwirkt und daß die zugesetzte Saccharose quantitativ wiedergefunden wurde.

Ich habe versucht, die Methode durch Wahl höherer Temperaturen zu beschleunigen; es gelingt zwar, durch $^{3}/_{4}$stündiges Kochen zum Ziele zu gelangen; doch sind dann die Lösungen oft so dunkel, daß die polarimetrische Bestimmung Schwierigkeiten macht. Ebenso erscheint es nicht ratsam, die Alkalimengen zu steigern, da hierbei ebenfalls Dunkelfärbungen auftreten.

In einer besonderen Versuchsreihe wurde untersucht, wie Ammonsalze auf die Umwandlung der Dextrose einwirken.

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Gegenwart von Ammonsalzen im Rückgange der Dextrose erst zu konstatieren ist, wenn die Konzentration der Ammonsalze äquivalent ist der Natronlauge. Ein vollständiger Rückgang tritt erst ein, wenn die Natronlauge gegenüber den Ammonsalzen im Überschusse vorhanden ist.

	Polarisation vor den Versuchen in Graden V.	Polaris. n. 24 std. Stehen bei 37° in Graden V.
$^{2}/_{10}$ normal-$(NH_4)_2SO_4$ + 1% Dextrose + $^{n}/_{10}$-NaOH	2,8	2,8
$^{4}/_{10}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	2,7
$^{6}/_{10}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	2,8
$^{8}/_{10}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	2,7
n „ „ + 1% „ + „	2,8	2,7
$^{1}/_{10}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	1,4
$^{1}/_{20}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	—
$^{1}/_{30}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	—
$^{1}/_{40}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	—
$^{1}/_{50}$ „ „ + 1% „ + „	2,8	—

Aus den Zahlen ergibt sich ferner, daß, wenn ein Harn $^{n}/_{10}$ in bezug auf das vorhandene Ammonsalz ist, ein vollständiger Rückgang der Drehung der Dextrose nicht erfolgt. Diese Tatsache wurde durch direkte Versuche im Harn bestätigt:

Harn mit 1,3% Dextrose polarisierte + 3,7° V. Diesem Harn wurde so viel Ammonsulfat zugesetzt, daß eine $^{n}/_{10}$-Lösung resultierte; pro Liter 6,1 g $(NH_4)_2SO_4$.

Der Harn wurde $^{n}/_{10}$-alkalisch gemacht und eine Probe durch 24 Stunden im Thermostaten bei 37° stehen gelassen. Die Polarisation nach 24 Stunden ergab + 3,1° V.

Eine andere Probe wurde $^{3}/_{4}$ Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die Polarisation nach dem Kochen betrug + 2,7° V.

Eine dritte Probe wurde $^{n}/_{4}$-alkalisch gemacht und 24 Stunden im Thermostaten bei 37° stehen gelassen. Die Polarisation betrug — 0,3° V.

Ebenso trat nach $^{3}/_{4}$stündigem Kochen ein vollständiger Rückgang der Dextrose ein.

Wurde dieser Harn im Verhältnis 1 : 1 verdünnt und $^{n}/_{10}$-alkalisch gemacht, so konnte sowohl nach 24stündigem Stehen im Thermostaten als nach $^{3}/_{4}$stündigem Kochen am Rückflußkühler ein vollständiger Rückgang der Polarisation der Dextrose konstatiert werden.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist bei allen jenen Zuckerharnen, bei denen infolge ihres Gehaltes an Ammonsalzen in unverdünntem Zustande kein vollständiger Rückgang der Polarisation zu konstatieren war, die Drehung auf Null zurückgegangen, sobald sie im Verhältnisse 1 : 1 mit destilliertem Wasser verdünnt und hierauf $^{n}/_{10}$-alkalisch gemacht wurden. —

Auf Grund dieser Ergebnisse, sowie der anderweitigen Erfahrungen mit der Methode schlage ich folgendes Verfahren zur Bestimmung der Saccharose im Harn vor:

Harne bis zu 5 °/₀ Dextrose werden im Verhältnisse 1 : 1, Harne mit mehr als 5 °/₀ Dextrose im Verhältnisse 1 : 2 mit destilliertem Wasser verdünnt.

100 ccm der Lösung werden mit 2,5 ccm einer $^{4n}/_1$-Natronlauge versetzt und im geschlossenen Gefäße im Thermostaten ununterbrochen durch 24 Stunden bei 37° stehen gelassen. Hierauf wird abgekühlt, mit Essigsäure schwach angesäuert, 50 ccm mit 5 ccm Bleiacetatlösung (1 : 10) auf 55 ccm aufgefüllt, umgeschüttelt, filtriert und polarisiert.

Resultiert eine geringe negative Enddrehung, so ist Saccharose nicht vorhanden. Ergibt sich eine positive Polarisation, so ist Saccharose im Harn vorhanden, und zwar entspricht 1° V. = 0,278 °/₀ Saccharose, wobei dann noch Rücksicht auf die Verdünnung zu nehmen ist.

Die Methode gestattet, noch 0,2 °/₀ Saccharose im Harn mit Sicherheit nachzuweisen.

In Harnen, die β-Oxybuttersäure oder andere optisch aktive Substanzen, von Medikamenten herrührend, enthalten, ferner in Harnen, die in ammoniakalische Gärung übergegangen sind oder einen abnorm hohen Gehalt an Ammonsalzen aufweisen, gibt die Methode keine zuverlässigen Resultate.

Über das Verhalten von α-α-Dichlorisopropylalkohol-carbaminsäureester (Aleudrin).

Von

Th. A. Maaß.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 12. Juni 1912.)

Mit 6 Figuren im Text.

Nachdem O. Liebreich im Jahre 1869 unserem Arzneischatz das erste Schlafmittel, das Chloralhydrat eingefügt hatte, begann bei den Pharmakologen und synthetischen Chemikern ein rastloses Streben, weitere organische Verbindungen aufzubauen und zu erproben, die sich bei mindestens gleicher schlafmachender Wirksamkeit vor dem Chloralhydrat durch geringere Giftigkeit und das Fehlen von unerwünschten Nebenwirkungen auf Kreislauf, Verdauung usw. auszeichnen sollten. Es sei hier keiner Kritik unterzogen, wieweit diese Aufgabe innerhalb des mehr als 50 jährigen Zeitraumes gelöst worden ist, sondern nur das praktische Ergebnis angeführt, daß wir heute eine ganze Anzahl gut brauchbarer Schlafmittel besitzen, unter denen sich allerdings das Chloralhydrat nach wie vor eine durchaus geachtete Stellung bewahren konnte. Ohne auf den Werdegang des modernen Schlafmittels vom Chloral bis zum Luminal näher eingehen zu wollen, sei nur erwähnt, daß die älteren Präparate nie ihre nahe gedankliche und chemische Verwandtschaft mit ersterem verleugnen konnten und erst die neueren gänzlich anderen chemischen Familien entstammen.

Die Aufschließung neuer schlafmachender Gruppen geschah nun durchaus nicht nur aus dem Streben heraus, etwas Neues schaffen zu wollen, sondern auch aus einer ganz bestimmten pharmakologischen Überlegung: Man sah als Träger

der unerwünschten Zirkulationswirkung des Chlorals seinen Halogengehalt an und wollte deshalb Atomgruppierungen finden, die schon an sich ohne Halogenierung genügende schlafmachende Eigenschaften besäßen.

Als bestes Produkt dieser Untersuchungsreihen dürfte das Veronal zu bezeichnen sein, das bei Halogenfreiheit ein starkes und gutes Schlafmittel darstellt, allerdings trotzdem, wie namentlich durch neuere Untersuchungen von Jakobj und seinen Schülern bewiesen wird, durchaus nicht frei von Wirkungen auf die Blutverteilung ist.

Andere Bestrebungen zielten darauf hin, den Schlafmitteln zwar einen gewissen Halogengehalt zu lassen, jedoch an Stelle des Chlors das schon in seinen anorganischen Verbindungen deutlich sedative Wirkungen zeigende Brom zu setzen. Als Vertreter dieser Gruppe sei von neueren Mitteln das Adalin genannt.

Die allerjüngsten Bestrebungen schließlich lehnen sich an die sogenannte Bürgische Kombinationstheorie an, d. h. sie kuppeln oder mischen zwei Pharmaka ähnlicher Wirkung zu einer Kombination, die dann stärker wirken soll, als nach Addition der Wirkungen ihrer Komponenten zu erwarten wäre.

Nicht nur das Chloralhydrat an sich, sondern auch die Art seines Abbaus im Tierkörper hat den Anstoß zu neuen Schlafmittelsynthesen gegeben. Man hat versucht, die aus diesem im Organismus entstehenden gechlorten Alkohole selbst als Hypnotika zu verwenden. In dieser Gruppe erwies sich der Trichlorisopropylalkohol, das Isopral, als gutes Schlafmittel, dem nur seine physikalischen Eigenschaften, wie Flüchtigkeit, sehr niedriger Schmelzpunkt und scharfer Geruch für eine allgemeine Verbreitung hindernd im Wege standen.

Zieht man aus diesem kurzen Überblick über die Entwicklung des modernen Schlafmittels das Fazit, so zeigt sich, daß es eine ganze Reihe von Atomgruppierungen gibt, die einer Verbindung schlafmachende Eigenschaften verleihen können. Keiner dieser Komplexe besitzt aber gegenüber den anderen so hervorstechend günstige Eigenschaften, daß er als der einzig zulässige Grundstein für den Aufbau neuer Hypnotika zu bezeichnen wäre, sondern es liegt am inneren Aufbau des Moleküls und an einer ganzen Reihe von zum Teil noch nicht

vorausbestimmbarer Momente, welche Verbindung in jeder der bekannten hypnotischen Gruppen ein wirklich therapeutisch brauchbares Schlafmittel darstellt.

Die Kenntnis verschiedener schlafmachender Gruppen legte den Gedanken nahe, Verbindungen aufzubauen, die in sich mehrere solcher Gruppen zu einem Molekül vereint enthielten.

Zu den vorliegenden Versuchen wurde hierzu die Gruppe der halogenierten Alkohole gewählt und diese durch Überführung in ihre Carbaminsäureester in Harnstoffderivate verwandelt, um so die hypnotische Wirkung des Harnstoffkomplexes mit der der halogenierten Alkohole vereinen zu können. Die hierbei resultierenden Körper hatten, welch halogenierter Alkohol auch immer verwendet wurde, alle mehr oder minder ausgesprochene hypnotische Eigenschaften, besaßen jedoch häufig unerwünschte physiologische Nebenwirkungen, die ihre therapeutische Verwendung stark in Frage stellten. So entstand z. B. bei der Vereinigung von Carbaminsäure mit dem Trichlorpseudobutylalkohol (Chloreton) eine Verbindung, die durch die Schnelligkeit, mit der sie einen tiefen Schlaf und völlige Analgesie hervorbrachte, geradezu verblüffte, jedoch daneben so unerwünschte Wirkungen auf den Atemmechanismus ausübte, daß auf ihre genauere Untersuchung von vornherein verzichtet wurde. Einige von bromierten Alkoholen abgeleitete Derivate wirkten sogar krampferregend.

Ohne weitere Einzelheiten über die physiologischen Wirkungen der Carbaminsäureester der verschiedenen gechlorten Alkohole anführen zu wollen, sei nur gesagt, daß sowohl in bezug auf seine chemischen und physikalischen, als auch namentlich auf seine pharmakodynamischen Eigenschaften der Carbaminsäureester des α-α-Dichlorisopropylalkohols, also des zweifach gechlorten Glycerins, der zu einem guten Schlafmittel brauchbarste Repräsentant dieser Gruppe war. Diese Verbindung bot auch noch dadurch Interesse, daß sie wohl das erste gechlorte Schlafmittel darstellt, bei dem von dem das Chloralhydrat gegebenen und durch das Isopral bestätigten Schema der drei Chloratome abgegangen und an Stelle dessen nur eine zweifach gechlorte Verbindung gewählt wurde, bei der außerdem die beiden Chloratome an verschiedenen Kohlen-

stoffatom sitzen. Will man in der Anzahl und Stellung der Chloratome die zirkulationsherabsetzende Wirkung der bekannten gechlorten Schlafmittel suchen, so mußte diese bei der zweifach gechlorten Verbindung geringer sein als bei den Trichlorverbindungen, eine Voraussetzung, die durch das Resultat der weiter unten angeführten Versuche ihre Bestätigung zu finden scheint. In dem folgenden sei der Carbaminsäureester des α-α-Dichlorisopropylalkohols der Kürze halber stets mit Aleudrin bezeichnet, unter welchem Namen die darstellende Firma Dr. Bruno Beckmann, Chemische Fabrik, Berlin, das Präparat in den Handel bringt.

Chemische und physikalische Eigenschaften.

Das Aleudrin ist der Carbaminsäureester des Dichlorisopropylalkohols von der folgenden Zusammensetzung:

$$\begin{array}{l} CH_2Cl \\ CHOCONH_2 \\ CH_2Cl. \end{array}$$

Es ist eine weiße, geruchlose, schön krystallisierende Substanz, die den Schmelzpunkt 82° (unkorr.) besitzt. In Wasser ist das Aleudrin schwer löslich.

Wasser von Zimmertemperatur löst etwa 0,75 %,
Wasser von 70° löst etwa 6 %.

Aleudrin löst sich leicht in Alkohol, Benzol, Chloroform, Äther, Ölen, Aceton, Glycerin und fetten Ölen.

Aus der Lösung in Benzol wird die Substanz durch Ligroin krystallinisch ausgefällt.

In Glycerinwasser (Glycerin 2,0 Aqua ad 100) läßt sich unter Erhitzen leicht eine 2 %ige Aleudrinlösung herstellen, die bei Körpertemperatur noch nicht auskrystallisiert. Bei langem Kochen der Substanz mit Wasser werden Spuren Salzsäure abgespalten. Beim Erhitzen mit verdünnter Kalilauge tritt deutlicher Acetamidgeruch auf. Beim Kochen mit konzentrierter Lauge entwickelt sich außerdem ein Geruch nach Aldehydharz und entweicht Ammoniak. Die bei dieser Zersetzung entstehenden Dämpfe reduzieren ammoniakalische Silberlösung unter Bildung eines Silberspiegels.

Konzentrierte Schwefelsäure löst Aleudrin zu einer farb-

losen Flüssigkeit, die erst durch starkes Erhitzen eine Braunfärbung annimmt.

Nach Passage des Aleudrins durch den Tierkörper treten im Harn gepaarte Glukuronsäuren auf.

Physiologische Eigenschaften.

1. Wirkung auf Kaltblüter.

A. Fische.

Die Wirkung auf Fische wurde in der Art studiert, daß je zwei Silberfische von etwa 4 cm Länge in 200 bis 300 ccm der verschieden konzentrierten Aleudrinlösungen gebracht und die Zeitintervalle markiert wurden, in denen die ersten Betäubungserscheinungen, erkenntlich an Störungen des Gleichgewichtsinns und die tiefe Narkose, ersichtlich aus dem Fehlen der Reaktion auf taktile Reize, eintraten. Nach Eintritt der tiefen Narkose, resp. nachdem diese einige Zeit bestanden hatte, wurden die Fische in frisches Wasser gebracht und beobachtet, ob und nach welcher Zeit völlige Erholung, d. i. munteres, gut koordiniertes Herumschwimmen der Tiere eintrat.

Die in der folgenden Tabelle angeführten Werte sind Mittelwerte aus je 3 bis 5 Doppelversuchen. Bei den Zahlen für den Eintritt der ersten Betäubungserscheinungen sind, da hier ziemlich große individuelle Verschiedenheiten vorzuliegen scheinen, der kürzeste und längste beobachtete Zeitabschnitt verzeichnet

Tabelle I.

Verdünnung 1 :	Prozentgehalt	Beginn der Wirkung nach	Tiefe Narkose nach	Aufenthalt in der Giftlösung	Erholung im Wasser nach
100	1,0	5—9″	12″	300″	Tod
200	0,5	8—12″	25″	300″	do.
300	0,33	15—20″	60″	300″	do.
350	0,286	8—20″	60″	300″	teils tot, teils erh.
400	0,25	20—35″	70″	300″	3600″
500	0,20	15—30″	60″	300″	1000″
1000	0,10	35—120″	100″	900″	2100″
2000	0,05	35—100″	260″	1800″	1800″
4000	0,025	160—200″	750″	900″	1000″
6000	0,0167	300—360″	?	3600″	sofort
8000	0,0125	300—600″	?	3600″	{teils in der Lösung teils sofort
9000	0,0111	600—720″	?	3600″	do.
10000	0,0100	?	?	3600″	in der Lösung

Aus der vorstehenden Tabelle geht hervor, daß die geringste Aleudrinkonzentration, die imstande ist, die in ihr schwimmenden Fische tödlich zu vergiften, mehr als das 26fache von der betragen muß, die noch deutliche narkotische Wirkungen ausübt.

Der Tod in den hochkonzentrierten Lösungen erfolgte unter dem Bilde der Atemlähmung. Blutungen oder Entzündungserscheinungen an den Kiemenschleimhäuten, wie sie das Chloralhydrat schon in relativ geringen Konzentrationen erzeugt, wurden nicht beobachtet.

Eine Vergleichung mit den von anderen Autoren für andere Hypnotika gefundenen Werten ist aus dem Grunde nicht angängig, weil nicht immer die von mir gewählte Versuchsanordnung des mindesten 5 Minuten langen Verweilens in der Giftlösung gewählt wurde, sondern meist die Fische nach Eintritt der tiefen Narkose oder der Atemlähmung sofort in frisches Wasser gebracht wurden, ein Verfahren, durch das der tödliche Schwellenwert natürlich zu wesentlich höheren Konzentrationen hinaufgerückt wird, als bei der hier gewählten langen Einwirkung des Giftes.

Als interessantes Faktum sei noch erwähnt, daß sich bei einigen orientierenden Versuchen mit Veronalnatrium herausstellte, daß dieses in Konzentrationen, in denen das Aleudrin schon schnell tiefe Narkose hervorruft, noch absolut keine hypnotische Wirkung auf die Fische ausübt.

B. Frösche.

Zur Feststellung der Wirkung auf Frösche wurden Eskulenten verwendet, und zwar im Institut überwinterte, durchschnittlich 40 bis 50 g schwere Exemplare.

Die Einverleibung des Aleudrins geschah durch Injektion der wässerigen Lösung in den Rückenlymphsack. Infolge der schweren Löslichkeit der Substanz mußten bei größeren Dosen warme Lösungen injiziert werden. Aus dem gleichen Grunde gelang es auch nicht, die tödliche Dosis festzustellen, da schon zur Einverleibung der noch nicht letalen Dosis von 1 mg pro Gramm Körpergewicht Mengen von 2 ccm Wasser nötig waren, eine Flüssigkeitsmenge, deren Überschreitung mir nicht opportun erschien.

Zur Erklärung der folgenden Tabelle sei gesagt, daß als Moment des Schlafeintrittes der gewählt wurde, in dem sich der Frosch in Rücken- oder Seitenlage bringen ließ, ohne sich sofort daraus zu befreien.

Als Eintritt der vollen Anästhesie wurde der Zeitpunkt markiert, zu dem der Frosch auf heftigste sensible Reize in

keiner Weise mehr reagierte. Ferner wurde die Zurückkehr der Empfindlichkeit, das Erwachen aus dem Schlaf, das Verhalten der Atmung und der Ausgang des Versuches beobachtet.

Ein der Betäubung vorangehendes Erregungsstadium wurde nie beobachtet. Der Verlauf war stets der, daß die anfänglich munteren Frösche bald nach der Injektion ruhig in normaler Hockstellung dasaßen, um nach und nach in Schlaf und — bei den größeren Dosen — Anästhesie zu gelangen.

Eine wesentliche Gewichtsabnahme wurde selbst bei den Tieren, die tagelang in tiefer Narkose gelegen hatten, nicht beobachtet.

Bald nach dem Erwachen zeigten die Frösche vollkommen normales Verhalten.

Die numerischen Resultate ergeben sich aus folgender Tabelle:

Tabelle II.

Gewicht des Frosches g	Dosis mg	pro Gramm Frosch mg	Beginn des Schlafes nach	Dauer des Schlafes	Beginn d. Anästhesie nach	Dauer der Anästhesie	Verhalten der Respiration	Ausgang
43	2,5	0,06	—	—	—	—	30′ verlangsamt	Erholung
50	4,0	0,08	6′	170′	—	—	170′ "	"
38	5,0	0,13	30′	30′	—	—	?	"
42	8,0	0,19	6′	3—20^h	—	—	?	"
46	10	0,22	6′	3—20^h	—	—	30′ gelähmt	"
47	11,3	0,24	8′	?	25′	30′	?	"
34	10	0,29	7′	?	25′	30′	?	"
47	15	0,32	7′	?	22′	70′	?	"
54	20	0,37	3′	3—20^h	15′	95′	30′ gelähmt	"
37	22	0,60	10′	?	30′	20^h	?	"
60	40	0,67	10′	?	20′	?	?	Tod an Pneumonie
39	30	0,77	6′	120—140^h	15′	48^h	72^h gelähmt	Erholung
50	40	0,80	6′	120—140^h	10′	48^h	72^h "	"
50	40	0,80	3′	?	12′	?	72^h "	"
41	41	1,0	4′	144—164^h	20′	?	72^h "	"
40	40	1,0	?	120—140^h	10′	60^h	72^h "	"
30	30	1,0	?	120—140^h	10′	60^h	72^h "	"

Aus der obenstehenden Tabelle geht hervor, daß der Grenzwert für die hypnotische Wirkung bei 0,06 bis 0,08 mg, für die anästhesierende bei 0,22 bis 0,24 mg pro Gramm Frosch liegt. Die aus den oben angeführten

Gründen nicht erreichbare tödliche Dosis ist größer als 1 mg pro Gramm Frosch, beträgt also jedenfalls mehr als das 14fache der schlafmachenden und das 4fache der anästhesierenden Dosis.

2. Warmblüter.

A. Hunde.

Den Hunden, die gewöhnlich seit dem Abend vorher nüchtern waren, wurde das Aleudrin mit der Schlundsonde in etwa 2%iger Lösung von Körpertemperatur gegeben.

Als Lösungsmittel wurde 2%iges Glycerinwasser verwendet. In einigen Fällen geschah die Darreichung, um die Bedingungen der ev. therapeutischen Dosierung in Tabletten nachzuahmen, in einer Aufschwemmung in kaltem Wasser, in einem Falle wurde die Lösung subcutan injiziert.

Die Erscheinungen, die nach Darreichung kleiner Dosen zunächst zu beobachten waren, bestanden in einem bald nach Aufnahme des Mittels einsetzenden Bewegungsdrang.

Dann fangen die Hunde an, zu torkeln und gegen Hindernisse zu rennen, fallen um, richten sich wieder auf, bis sie sich schließlich in eine dunkle warme Ecke verkriechen, um dort in ruhigen Schlaf zu kommen.

Bei größeren, bisweilen auch schon bei kleinen Dosen fällt die Periode des Bewegungsdranges, die man übrigens in noch viel höherem Maße nach Veronaldarreichung, beobachten kann, ganz weg oder schrumpft auf die Dauer einiger Sekunden zusammen. Nach dem Erwachen sind die Hunde nach kurzer Zeit ganz munter und fressen ihr Futter sehr gierig auf.

Als charakteristisch für den Verlauf der Vergiftung mit kleinen und großen Dosen seien folgende Beispiele gegeben:

Versuch 39.

Terrierhündin, Gewicht: 8,700 kg (0,25 g pro kg).

2h 14′. 2,2 g Aleudrin in 150 ccm Wasser von 38° pro Schlundsonde.

2h 20′. Steife Bewegung der hinteren Extremitäten. Torkeln.

2h 25′. Bewegungsdrang.

2h 32′. Fällt häufig um.

2h 45′. Rennt gegen Hindernisse.

3h 00′. Schläft im Stehen ein.

3h 05′. Fester ruhiger Schlaf. Empfindlichkeit erhalten.

3h 15′. Sehr tiefer Schlaf. Empfindlichkeit stark herabgesetzt. Im Laufe des Nachmittags befindet sich der Hund meist in ruhigem Schlaf. Am nächsten Morgen ist er vollkommen munter und normal.

Versuch 56.

Box, Gewicht: 16,800 kg (0,6 g pro kg).

15. II. 2h 30'. 10,08 g Aleudrin in 250 ccm Glycerinwasser pro Schlundsonde.

2h 33'. Schwankt, fällt um, bleibt liegen.

2h 40'. Tiefste Narkose. Reflexe erloschen.

7h 00'. Stat. id.

16. II. 12h 00' (mittags). Tiefe Narkose. Kornrealreflex vorhanden.

8h 00' (abends). Tiefer Schlaf, reagiert schwach auf heftige sensible Reize.

17. II. 11h 00' (vormittags). Schlaf. Wird aufgeweckt, frißt und säuft gierig, schläft sofort wieder ein.

8h 00' (abends). Schlaf.

18. II. 11h 00' (vormittags). Benommen, im Laufe des ganzen Tages noch viel Schlaf.

19. II. 10h 00' (vormittags). Sehr munter.

Die Resultate der mit Hunden angestellten Versuche seien schließlich in folgender Tabelle vereinigt.

Tabelle III.

Hund	Gewicht kg	Dosis g	pro kg Körpergewicht g	Eintritt des Schlafes nach	Dauer des Schlafes	Ausgang	Art der Darreichung
Spitz . . .	12,1	1,2	0,10	Benommenheit durch 1h 30'			
Spitz . . .	7,3	1,05	0,15	30'	2h	Erholung	Lösung per os
Dackel . . .	10,0	2,0	0,20	1h 30'	7h	„	Lösung subcutan
Box	17,0	4,25	0,25	20'	7h	„	Lösung per os
Terrier . .	8,7	2,2	0,25	45'	8h	„	Aufschwemmung per os
kl. Hund .	2,95	1,0	0,34	14'	?	„	Lösung per os
br. Hund .	8,5	4,25	0,50	15'	24h	„	Aufschwemmung per os
Terrier . .	7,6	3,80	0,50	5'	26h	„	Lösung per os
Box	16,8	10,08	0,60	3'	70h	„	Lösung per os
br. Hund .	8,0	5,60	0,70	3'	Tod am 3. Tag, schw. Pneumonie		Lösung per os

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die kleinste wirksame Dosis zwischen 0,1 und 0,15 g Aleudrin pro Kilogramm Hund liegt und die tödliche 0,7 g beträgt. Ob der

bei dieser Dosis eintretende Tod direkt durch das Mittel hervorgerufen wird oder indirekt als Folge einer hypostatischen Pneumonie eintritt, soll hier keiner Diskussion unterzogen werden.

Erwähnt sei noch, daß das Mittel bei einer größeren Anzahl von Hunden Verwendung fand, die Operationen wie Anlegung von Gallen oder Ureterenfisteln u. dgl. m. unterzogen wurden. Hier wurde das Mittel in Dosen von 0,3 bis 0,35 g pro Kilogramm Hund $^1/_2$ bis 1 Stunde vor der Operation gegeben. Es konnten dann die bis zu 2 Stunden dauernde Eingriffe entweder in reiner Aleudrinnarkose oder unter Zugabe von wenigen Tropfen Äther schmerzlos vorgenommen werden. Der Heilungsverlauf war stets auffallend glatt, was m. E. teilweise dem Umstande zuzuschreiben ist, daß die mit Aleudrin betäubten Tiere den Operationstag und die folgende Nacht noch schlafend zubrachten, und dadurch den Verband resp. die frische Wunde keinen Insulten ausgesetzt war.

3. Katzen.

Die Erprobung der Wirkung von Schlafmitteln, namentlich bei peroraler Darreichung, stößt bei Katzen im allgemeinen auf ziemlich große Schwierigkeiten, die durch die Ungebärdigkeit dieser Versuchstiere hervorgerufen werden. Die beiden Wege, einer Katze die Schlundsonde einzuführen, nämlich entweder dem wachen, aufgebundenen und geknebelten Tiere oder dem tief narkotisierten, haben beide ihr mißliches. Bei dem ersten, nur mit genügender Assistenz ausführbaren und meist zu einem recht unerquicklichen Kampfe ausartendem Verfahren, wird die Katze in einen sehr hohen Erregungszustand gesetzt, der bei dem recht labilen Nervensystem dieser Tiere selbst Stoffwechselstörungen (Glucosurie) hervorrufen kann, auf jeden Fall aber durchaus unnormale Bedingungen schafft.

Bei dem zweiten Vorgehen der Narkotisierung, der das Tier zuerst übrigens auch stets sehr heftigen Widerstand entgegensetzt, ist es kaum mit Sicherheit festzustellen, wenn die Wirkung der Inhalationsnarkose aufhört und die des stomachal eingeführten Mittels anfängt. Auch bei eintretendem Erbrechen kann man nie mit Sicherheit dessen eigentliche Ursache feststellen.

Um diesen Unannehmlichkeiten aus dem Wege zu gehen, bediente ich mich eines kleinen Kunstgriffes, der sich jetzt schon bei einer großen Reihe von Fällen sehr gut bewährt hat. Es gelingt nämlich außerordentlich leicht, bei Katzen einen Chloräthylrausch hervorzubringen, der lange genug anhält, um bei einigermaßen schnellem Arbeiten, die Einführung der Schlundsonde und Eingießung der Lösung, eine subcutane Injektion,

das Aufbinden des Tieres auf dem Operationsbrett, oder unter Benutzung eines schnell anzeigenden Thermometers die Messung der Rektaltemperatur vornehmen zu können. Die Erzeugung des Rausches geschah in der Art, daß eine halbkugelige, mit einer kleinen Öffnung versehenen Glas- oder Metallglocke, mit einem Wattebausch beschickt, auf diesen etwa 40 Tropfen Chloräthyl aufgetropft und die so vorbereitete Maske schnell über die Schnauze der Katze gestülpt wurde. Das kleine Luftloch bleibt nach Bedarf geöffnet oder wird mit dem Finger geschlossen. Widerstandsbewegungen der Katze erfolgen meist gar nicht oder höchstens in sehr geringem Maße. Sowie die Katze nicht mehr spannt, was nach wenigen Sekunden bis Minuten der Fall ist, wird das Maul mit einem Sperrer geöffnet, die Sonde eingeführt und die stomachale Eingießung vorgenommen, resp. einer der anderen aufgeführten Eingriffe ausgeführt. Nach dem Zurückbringen in den Käfig ist das Tier innerhalb weniger Sekunden völlig munter, und man kann alle Erscheinungen, die nunmehr etwa eintreten, auf den während des Rausches vorgenommenen Eingriff beziehen, da das Chloräthyl selbst, wie ich mich in einer Reihe von Kontrollversuchen überzeugen konnte, niemals irgendwelche Nachwirkungen zeitigt. Da auch bei dem Chloräthylrausch niemals irgendwelche störenden Erscheinungen seitens des Blutdruckes oder der Atmung zur Beobachtung kamen, kann ich die Methode als eine Erleichterung des Arbeitens mit den, zu Versuchszwecken so außerordentlich gut geeigneten Katzen empfehlen. Gleichzeitig warne ich, die bei Katzen gewonnenen Erfahrungen auf Kaninchen übertragen zu wollen, da diese ganz besonders empfindlich gegen Chloräthyl sind und schon auf ganz kurze Inhalationen oft mit plötzlicher Herzlähmung reagieren.

Die Wirkung des in beschriebener Weise den Katzen einverleibten Aleudrins, äußerte sich stets in Eintritt von Müdigkeit oder Schlaf. Ein der Einschläferung vorangehendes Erregungsstadium fehlte. Die Sensibilität war während des

Tabelle IV.

Gewicht g	pro kg g	Dosis g	Eintritt des Schlafes	Dauer	Ausgang
2250	0,05	0,125	Ermüdung	—	Erholung
2400	0,10	0,24	20′	3^h	"
4000	0,20	0,80	10′	$10—20^h$	"
2700	0,30	0,81	15′	$18—24^h$	"
2700	0,40	1,08	6′	$18—24^h$	"
3000	0,50	1,5	10′	Tod nach 24^h	—

Schlafes, je nach der Dosis herabgesetzt bis erloschen. In einem Versuch trat während des Schlafes Erbrechen von etwas Schleim ein.

Im Gegensatz zu den während der Aleudrinbetäubung

völlig ruhig daliegenden Hunden führten die Katzen während des Schlafes bisweilen leichte Bewegungen mit den Extremitäten aus, die jedoch niemals einen konvulsivischen Charakter annahmen.

Alles weitere ergibt sich aus der voraufgehenden Tabelle.

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die tödliche Dosis bei 0,5 g pro Kilogramm Katze, die deutlich einschläfernde bei 0,05 bis 0,1 g liegt. Die Katzen sind, also sowohl gegen die therapeutische wie gegen die giftige Wirkung des Aleudrins, empfindlicher als Hunde.

4. Kaninchen.

Kaninchen zeigen dem Aleudrin gegenüber eine wesentliche größere Resistenz als Hunde und Katzen. Eine deutliche Betäubung ist bei diesen erst nach Dosen von 0,5 g zu bemerken, während die tödliche Dosis zwischen 1,25 und 1,50 g pro Kilogramm Tier liegt.

Die vorliegenden Resultate sind übrigens auch ein schlagender Beweis dafür, daß man sich bei der Prüfung eines Arzneistoffes nicht auf eine Tierart beschränken darf, sondern verschiedene heranzuziehen sind.

So gestaltet sich das Verhältnis der tödlichen Dosen für

Katze : Hund : Kaninchen = 1 : 1,4 : 3

das der schlafmachenden = 1 : 1,5 : 5.

Die Quotienten $\frac{\text{tödliche Dosis}}{\text{schlafmachende Dosis}}$ betragen

für die Katze . . 5,0
für den Hund . . 4,7
für das Kaninchen 3,0.

Will man aus diesen Ergebnissen einen Schluß ziehen, so sieht man eine gleiche Reaktion der beiden Fleischfresser und eine abweichende des pflanzenfressenden Kaninchens.

Wirkung auf die Körperfunktionen.

1. Temperatur.

Da es von einer ganzen Reihe von Schlafmitteln bekannt ist, daß sie neben der Hypnose, Temperatursenkungen bis zum jähen Temperatursturz hervorrufen, war es von Wichtigkeit festzustellen, wie sich das Aleudrin in dieser Beziehung verhielte.

A priori hierüber Vermutungen aufzustellen, schien unstatt-

haft, da die temperaturherabsetzende Wirkung durchaus nicht an das Vorhandensein bestimmter hypnogener Gruppen gebunden zu sein scheint, sondern Schlafmitteln der verschiedensten chemischen Provenienz zukommt. Es sei nur an die temperaturherabsetzende Wirkung des Chloralhydrats und des ihm in chemischer Beziehung denkbar fernstehenden Veronals erinnert. Für letzteres Mittel scheinen die von allen Autoren, wie Gröber, Kleist, Jacobj, Römer u. a. m. beobachteten Temperaturstürze gerade charakteristisch zu sein.

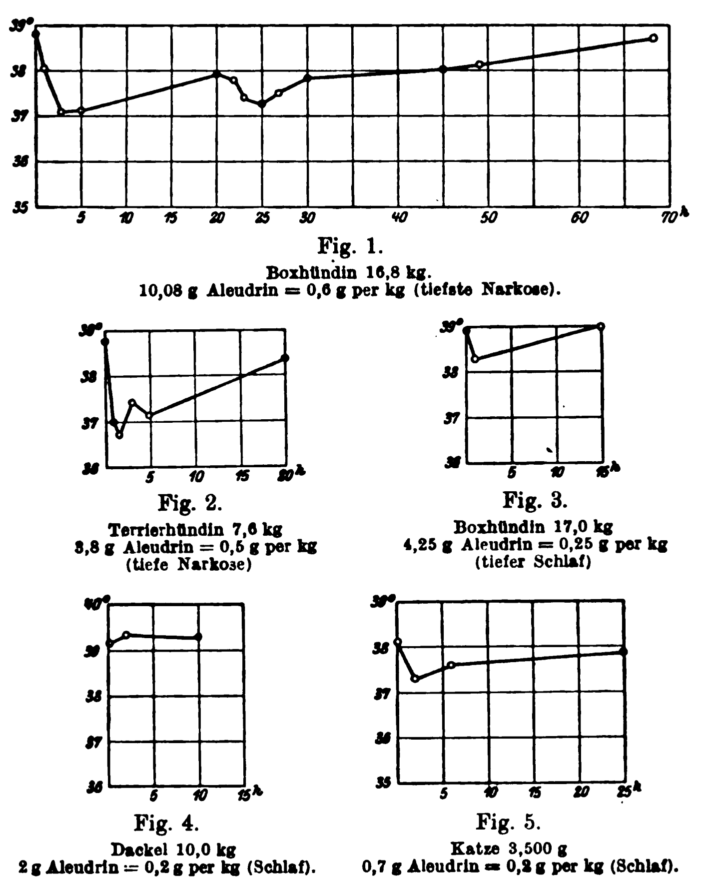


Fig. 1.
Boxhündin 16,8 kg.
10,08 g Aleudrin = 0,6 g per kg (tiefste Narkose).

Fig. 2.
Terrierhündin 7,6 kg
3,8 g Aleudrin = 0,5 g per kg
(tiefe Narkose)

Fig. 3.
Boxhündin 17,0 kg
4,25 g Aleudrin = 0,25 g per kg
(tiefer Schlaf)

Fig. 4.
Dackel 10,0 kg
2 g Aleudrin = 0,2 g per kg (Schlaf).

Fig. 5.
Katze 3,500 g
0,7 g Aleudrin = 0,2 g per kg (Schlaf).

Trotz einer gewissen Verwandtschaft mit den beiden genannten Mitteln zeigte nun das Aleudrin in dieser Beziehung eine auffallend geringe Wirkung. Die durch das Mittel gesetzten Temperaturänderungen sind m. E. nicht größer, als sie

durch das stille Liegen der Tiere an sich schon hervorgerufen werden würden. Einige hier wiedergegebene Kurven über das Verhalten der gegebenen Beispiele von Temperaturkurven verschiedener Tierarten während der Aleudrinbetäubung mögen dies illustrieren.

Schließlich sei noch eine Kurve gegeben, die eine Zusammenstellung einiger nach Daten aus den oben genannten Arbeiten zusammengestellten Kurven über die Temperaturwirkung des Veronals, mit von mir durch Aleudrindarreichung an Kaninchen gewonnenen Kurven enthält.

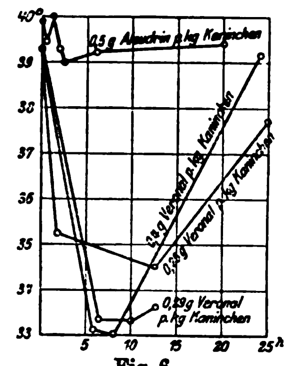


Fig. 6.

Alle hier angegenenen Temperaturwerte sind durch Messungen in recto gewonnen, wobei selbstverständlich stets auf gleichtiefe Einführung des Thermometers geachtet wurde. Die betäubten Tiere wurden in der Nähe der Zentralheizung gelagert.

Es ergibt sich aus den beigefügten Kurven, sowie aus einer Reihe anderer nicht mitveröffentlichter Versuche mit Sicher heit, daß das Aleudrin, selbst in tief narkotisierenden Dosen, niemals eine Herabsetzung der Temperatur hervorruft, die in ihrem Umfange sehr wesentlich über das Maß der physiologischen Schwankungen hinausgeht. Ebensowenig waren nach der Anwendung von Dosen, die der tödlichen ziemlich nahestanden, Temperatursteigerungen zu beobachten, die auf entzündliche Erscheinungen hingedeutet hätten.

Sehr charakteristisch ist der aus Kurve 6 ersichtliche Unterschied zwischen Veronal und Aleudrin in bezug auf ihre Temperaturwirkung, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die von verschiedenen Autoren erhaltenen Werte nur in bezug auf die allgemeine Größenordnung vergleichbar sind.

Respiration.

Die Versuche über die Einwirkung des Aleudrins auf die Respiration wurden an Kaninchen und Katzen angestellt. Während bei ersteren ohne Narkose gearbeitet wurde, wurden letztere im Chloräthylrausch aufgebunden, die vorbereitenden Operationen in Äther-Inhalationsnarkose ausgeführt und während des eigentlichen Versuches durch intravenösen Einlauf einer mit Äther gesättigten physiologischen Kochsalzlösung die

Narkose erhalten. Dies Verfahren wurde gewählt, um einerseits die bei der Einatmung eines Inhalationsnarkotikums durch Ventile entstehenden Schwierigkeiten und andererseits eine Komplikation des Versuches durch ein neues, per os oder intravenös darzureichendes Betäubungsmittel zu vermeiden. Sie bietet außerdem den Vorteil einer sehr guten Regulierbarkeit der Tiefe der Narkose.

Die Registrierung der Atmung geschah nach der Methodik des Zuntz-Geppertschen Respirationsversuches unter Verwendung einer besonders für kleine Tiere eingerichteten, sehr leicht spielenden Gasuhr. Bei einigen Versuchen wurde auf die Messung der absoluten Atemvolumina verzichtet und die Atmung vermittels eines Maaßschen Volumschreibers von einer zwischen Lunge und Ventilen befindlichen Zweigleitung aus graphisch registriert.

Das Resultat der Versuche erleuchtet aus den folgenden Tabellen.

Tabelle V.

Kaninchen 2260 g (tief narkotische Dosis).

Zeit	Minutenvolum ccm	Einzelvolum ccm	Frequenz pro Minute
12h 40′	968	13,8	70
12h 50′	938	14,0	66
1h 00′	968	13,7	68
1h 08′	2,26 g Aleudrin in 50 ccm Wasser durch Ösophagusfistel in den Magen = 1 g pro kg Kaninchen		
1h 15′	811	14,4	56
1h 50′	769	12,8	60
2h 05′	750	12,7	59
2h 20′	600	13,0	46
2h 50′	833	14,8	56

Tabelle VI.

Kaninchen 1900 g (tief narkotische Dosis).

Zeit	Minutenvolum ccm	Einzelvolum ccm	Frequenz pro Minute
12h 05′	882	14,7	60
12h 17′	882	14,7	60
12h 25′	1,9 g Aleudrin in 40 ccm Wasser durch Ösophagusfistel in den Magen = 1,0 g pro kg Kaninchen		
12h 31′	790	16,1	49
12h 38′	750	15,0	50
12h 46′	759	13,6	56
12h 55′	790	14,3	54
1h 05′	790	15,2	52
1h 20′	714	14,3	50
1h 30′	667	14,5	46
1h 50′	667	14,5	46

Tabelle VII.

Katze 2540 g (intravenöse Äthernarkose, 1,5fache tödliche Dosis).

Zeit	Minutenvolum ccm	Einzelvolum ccm	Frequenz pro Minute
12h 30′	612	30,6	20
12h 45′	600	27,6	22
12h 55′	2,0 g Aleudrin in 50 ccm Wasser durch Ösophagusfistel in den Magen = 0,8 g pro kg Katze		
1h 07′	400	13,3	30
1h 15′	278	10,0	28
1h 30′	333	11,1	32
1h 45′	333	12,8	36
2h 00′	353	10,7	33
2h 15′	300	11,6	26

Tabelle VIII.

Katze 1800 g (intravenöse Äthernarkose, sehr leicht, 3fach tödliche Dosis).

Zeit	Minuten-volum ccm	Einzel-volum ccm	Frequenz pro Minute	
12h 40′	625	24,0	26	Schlaf
12h 55′	788	26,3	30	Wach
1h 00′	1034	28,7	36	Wach
1h 12′	682	25,2	27	Schlaf
1h 20′	2,7 g Aleudrin durch Ösophagusfistel in den Magen = 1,5 g pro kg Katze			
1h 25′	240	13,3	18	Corn.-Reflexe erloschen
1h 32′	188	9,4	20	
1h 45′	182	11,2	16	

Bei weiteren Versuchen, die Respiration zu messen, tritt jedesmal Atemstillstand ein, der auf einige künstliche Respirationen weicht, jedoch weitere Registrierungen unmöglich macht.

Aus den Respirationsversuchen geht also hervor, daß 1 g pro kg Kaninchen, per os dargereicht, eine geringe Senkung des Minutenvolums und der Frequenz zur Folge hat, während das Einzelvolum kaum verändert wird. Bei narkotisierten Katzen bewirkte erst die mehrfache tödliche Dosis auch eine deutliche Herabsetzung des Einzelvolums.

Zirkulation.

Zur Prüfung der Wirkung des Aleudrins auf die Zirkulation wurden zunächst Versuche unternommen, das isolierte Froschherz der Einwirkung des Mittels zu unterwerfen.

Die Versuchsanordnung hierbei war die vom Verfasser schon früher angewendete modifizierte Jakobjsche Durchströmung. Das Prinzip dieser Arbeitsweise besteht darin, daß das Herz unter einem sehr geringen Überdruck (etwa 30 mm Wasser) mit Ringerlösung gefüllt wird. Die durch die obere linke Hohlvene eintretende Flüssigkeit passiert das Herz und tritt durch eine durch die linke Aorta eingeführte Kanüle aus. Als beliebig variierbarer, das Gefäßsystem ersetzender Widerstand wurde ein an einem Zahntrieb befestigtes Kapillarrohr verwendet, das beliebig tief in ein mit seitlichem Überlauf versehenes, mit Quecksilber bis einige Millimeter unter den Überlauf gefülltes Reagensglas eingetaucht werden konnte. Die aus dem Überlauf abtropfende Flüssigkeit, d. i. die vom Herzen geförderte Blutmenge, passierte einen Jakobjschen Strommesser, dessen jedesmalige Füllung und Entleerung durch ein elektromagnetisches Signal auf der Kymographionschleife verzeichnet wurde. Außerdem befindet sich in der Abflußleitung ein registrierendes Hg-Manometer und ein Wassersteigrohr, das eine direkte Ablesung der Höhe der vom Herzen geförderten Wassersäule gestattet. Neben dem Blutdruck und dem Auswurfsvolumen wurde noch die plethysmographische Kurve des Herzens verzeichnet, indem dieses seine Arbeit in einem kleinen, geschlossenen Glasgefäß vollführte, durch dessen Stöpsel die Zu- und Ableitungskanüle und ein frei endendes Glasrohr führte, das durch einen Schlauch mit einem Maaßschen Volumschreiber in Verbindung stand. Der Widerstand wurde so gewählt, daß das Herz gleichmäßige, gute Contractionen ausführte und ausreichende Mengen Flüssigkeit auswarf.

Als Ernährungsflüssigkeit benutzte ich nach dem Vorgange von Jakobj eine in ihrer Viscosität dem Froschserum näher gebrachte Ringerlösung, nur verwendete ich an Stelle des sehr teuren Arabins gewöhnliches Gummi arabicum, dem ich durch mehrtägiges Quellen in wiederholt gewechseltem, frischem kaltem Wasser einen Teil seines Salzgehaltes entzog.

Die Menge des Gummizusatzes betrug pro Liter 35 g.

Nach den hier mitzuteilenden Versuchen, sowie einer großen Reihe anderer Versuche ist eine so hergestellte Lösung der gewöhnlichen Ringerlösung wesentlich vorzuziehen, da sie nicht nur eine längere und gleichmäßigere Leistungsfähigkeit des Herzens gewährleistet, sondern auch einen Schutz gegen das sonst ziemlich häufig eintretende Leckwerden des Herzens zu bieten scheint.

Zur Verwendung gelangten Herzen von 40 bis 60 g schweren, im Institut überwinterten Esculenten. Die Resultate ergeben sich aus den folgenden Tabellen und Kurven.

Zeichenerklärung.

N. = Niveaudifferenz zwischen Atrioventrikulargrenze und Nährlösung = venöser Zuflußdruck in mm Wasser.

D. = arterieller Druck = Höhe der vom Herzen geförderten Flüssigkeitssäule in mm Wasser.

F. = Pulsfrequenz pro Minute.

Mv. = Minutenvolum = pro Minute geförderte Flüssigkeitsmenge in ccm.

Pv. = Pulsvolum = pro Systole geförderte Flüssigkeitsmenge in ccm.

A. = Arbeitsleistung pro Minute = Mv.·D. ausgedrückt in g/cm.

Tabelle IX.

Versuchs-Nr.	Nährlösung	Dauer der Einwirkung	N. mm	D. mm	F.	Mv. ccm	Pv. ccm	A. g/cm
1	Ringer	Vorperiode	30	90	36	4,5	0,125	40,5
	Aleudrin 1 : 2000	3′	30	90	40	2,8	0,07	25,2
	do.	12′	30	100	36	3,6	0,10	36,0
	do.	16′	30	85	34	2,7	0,089	22,9
	do.	24′	30	50	35	?	?	?
	Ringer	10′	30	95	38	3,3	0,087	31,3
	„	20′	30	95	38	4,5	0,118	42,7
2	Ringer	Vorperiode	35	205	44	6,6	0,15	135,0
	Aleudrin 1 : 2000	6′	35	160	38	4,5	0,12	70,0
	Ringer	10′	35	170	42	6,0	0,14	102,0
	Aleudrin 1 : 2000	10′	35	150	38	2,8	0,07	42,0
3	Ringer	Vorperiode	50	165	28	1,5	0,05	24,7
	Aleudrin 1 : 2000	10′	50	165	32	0,7	0,02	11,5
4	Ringer	Vorperiode	45	125	25	1,5	0,05	18,3
	Aleudrin 1 : 5000	5′	45	130	24	1,1	0,046	14,3
	Ringer	5′	45	130	20	1,6	0,08	20,8
	Aleudrin 1 : 2500	5′	45	130	19	1,2	0,06	15,6
	do.	15′	45	125	20	1,1	0,053	13,3
	Ringer	12′	45	125	25	1,5	0,06	18,8
5	Ringer	Vorperiode	35	110	38	1,1	0,029	12,0
	Aleudrin 1 : 4000	5′	35	95	38	1,0	0,027	9,5
	Ringer	10′	35	?	36	2,4	0,067	?
	Aleudrin 1 : 2000	5′	35	?	34	0,9	0,026	?
	Ringer	7′	35	?	34	2,0	0,060	?
	Aleudrin 1 : 1000	20′	35	75	26	0,1	0,005	0,9
6	Ringer	Vorperiode	50	160	28	1,4	0,05	22,4
	Aleudrin 1 : 4000	5′	50	160	28	0,9	0,03	14,4

Aus den Versuchen am isolierten Froschherzen läßt sich schließen, daß das Aleudrin in den untersuchten Konzentrationen von 1:5000 bis 1:1000 eine Abnahme der Arbeitsleistung des Herzens bewirkt, die je nach der Stärke der verwendeten Lösungen mehr oder minder ausgesprochen ist.

Beteiligt an dieser Arbeitsverminderung ist in erster Linie das Schlagvolumen, das eine deutliche Herabsetzung erfährt, während der Blutdruck erst durch die höheren Konzentrationen, und

auch hier erst nach längerer Einwirkung, eine Erniedrigung erfährt, die demnach wohl als sekundärer Natur aufzufassen ist.

Die Frequenz erfährt meist in den ersten Minuten der Durchströmung eine geringe Zunahme, die jedoch nicht deutlich genug ist, um nicht vielleicht nur auf die Versuchsanordnung zurückzuführen zu sein.

Später kehrt sie zur Norm, oder bei hohen Konzentrationen unter diese zurück.

Durch Auswaschung mit gewöhnlicher Ringerlösung lassen sich auch schon in ihrer Arbeitsleistung sehr schwer geschädigte Herzen zur normalen Leistungsfähigkeit zurückbringen.

Als allgemeine Anmerkung zu diesen Versuchen ist hinzuzufügen, daß sie unter sehr ungünstigen Bedingungen ausgeführt sind.

Dies lag erstens an der Jahreszeit, in der mir nur im Stadium der Inanition befindliche überwinterte Frösche zur Verfügung standen, und zwar nur Esculenten, da die in der Berliner Gegend gefangenen Temporarien zu klein für Herzversuche sind.

Außerdem aber verbreitete sich während der Anstellung dieser Versuche unter den Froschbeständen eine Epidemie, die sich neben Hauterscheinungen, Blutungen usw. im Auftreten schwerer Pneumonien äußerte und die Herzen der Tiere derartig schädigte, daß ich auch in den Vorperioden niemals Werte erhielt, die in ihrer Größe den von anderen Autoren erzielten auch nur nahekamen.

Ich behalte mir daher vor, diese Versuche unter Verwendung eines geeigneteren Froschmaterials einer Revision zu unterziehen, und betrachte die angeführten als an weitgehend geschädigten Herzen vorgenommen. Aus dem gleichen Grunde seien auch die nach der Engelmannschen Suspensionsmethode unternommenen Versuche nur kurz erwähnt. Es ergab sich, daß Dosen von 0,6 bis 1,0 mg pro Gramm Frosch, subcutan injiziert, eine Herabsetzung der Pulsfrequenz um 20 bis 40% bewirkten, die meist von einer Zunahme der Amplitude begleitet war.

Zur Untersuchung der Wirkung auf Warmblüter wurde eine große Reihe von Blutdruckversuchen an Kaninchen und Katzen angestellt.

Der Blutdruck wurde von der A. carotis oder A. femoralis geschrieben, und zwar meist mit dem Hg-Manometer, in einigen Fällen mit dem Gadschen Blutwellenschreiber.

Die Art der Aleudrinwirkung sei durch einige Tabellen erläutert.

Tabelle X.

Katze 2540 g. Intravenöse Äthernarkose. Hg-Schreiber an der r. Carotis. Tracheotomie. Ösophagusfistel. (1,6fache tödliche Dosis.)

Zeit	Blutdruck in mm Hg	Pulsfrequenz pro Minute	Bemerkungen
12h 30′	196	200	
12h 45′	190	—	
12h 55′	—	—	2 g Aleudrin in 50 ccm Wasser in den Magen
1h 02′	200	190	
1h 07′	196	—	Schluß des Äthereinlaufes
1h 15′	170	190	Auf heftige sensible Reizung Anstieg von 5 mm
1h 30′	172	—	
1h 45′	176	—	
2h 00′	188	190	
2h 20′	—	—	Erstickung bewirkt geringen Anstieg, dann Absinken und Atemstillstand.
2h 40′	150—200	—	Künstliche Respiration wellenförmige Kurve

Tabelle XI.

Katze 1800 g. Intravenöse Äthernarkose. Hg-Schreiber an der l. Carotis. Tracheotomie. Ösophagotomie. Atmung durch Ventile. (3fach tödliche Dosis.)

Zeit	Blutdruck in mm Hg	Pulsfrequenz pro Minute	Bemerkungen
1h 00′	168	—	
1h 05′	175	170	
1h 12′	175	180	
1h 20′	—	—	2,7 g Aleudrin in 50 ccm Wasser in den Magen. 1,5 g pro kg Katze
1h 25′	178	180	
1h 32′	148	170	Schluß des Äthereinlaufes
1h 45′	110	150	
1h 46′	36	—	Atemstillstand, hervorgerufen durch leichte Hinderung der Exspiration
1h 56′	120	150	Künstliche Respiration
2h 15′	130	135	„ „
2h 20′	100	—	Spontane „
2h 25′	18	—	Atemstillstand wie oben
2h 40′	100	120	Künstliche Respiration

Tabelle XII.

Katze 3400 g. Ätherinhalationsnarkose. Hg-Schreiber in der l. A. femoralis. Kanüle in der l. V. femoralis. Tracheometrie.

Zeit	Blutdruck in mm Hg	Pulsfrequenz pro Minute	Bemerkungen
$11^h 48'$	156	230	
$12^h 00'$	—	—	5 ccm 2%ige Aleudrinlösung intravenös = 0,03 g pro kg Katze
$12^h 02'$	156	230	
$12^h 05'$	120—142	216	10 ccm wie oben = 0,059 g pro kg. Atemstillstand. Künstl. Respir.
$12^h 07'$	138	—	
$12^h 30'$	146	216	Spontane Respir.
$12^h 31'$	104—140	210	10 ccm wie oben. Atemstillstand. Künstl. Respir.
$12^h 34'$	126	—	
$12^h 36'$	143	225	
$12^h 40'$	145	—	Spontane Respir.
$12^h 41'$	—	—	Erstickung bewirkt keinen Anstieg
$12^h 50'$	146	—	
$12^h 51'$	176	—	Bauchmassage und Aortenkompression
$1^h 09'$	136	204	
$1^h 10'$	102—136	180	
$1^h 11'$	—	—	10 ccm wie oben. Kurzer Atemstillstand, der von selbst vorübergeht
$1^h 20'$	142	204	
$1^h 21'$	102	—	10 ccm wie oben. Kurzer Atemstillstand
$1^h 30'$	186	186	
			Summe 45 ccm = 0,9 g Aleudrin = 0,27 g per kg (narkotische Dosis per os)

Tabelle XIII.

Kaninchen 2260 g. Hg-Manometer in der l. Carotis. Tracheotomie. Ösophagotomie. (Tief narkotische Dosis.)

Zeit	Blutdruck in mm Hg	Bemerkungen
$12^h 40'$	100	
$12^h 50'$	100	
$1^h 00'$	104	
$1^h 08'$	—	2,26 g in 40 ccm Wasser per os, 1 g pro kg
$1^h 15'$	74	
$1^h 50'$	84	
$2^h 05'$	82	
$2^h 15'$	66—114	Erstickung
$2^h 20'$	94	
$2^h 50'$	76	
$3^h 00'$	66—100	Erstickung

Tabelle XIV.

Kaninchen 1600 g. Gadscher Blutwellenschreiber an der r. Carotis.

Zeit	Blutdruck in mm Hg		Pulsfrequenz pro Minute	Bemerkungen
	Systole	Diastole		
11h 50′	120	80	280	
12h 00′	—	—	—	1,6 g per os, 1 g pro kg
12h 15′	120	75	290	
1h 15′	95	60	290	
2h 00′	95	50	280	

Tabelle XV.

Kaninchen 1900 g. Gadscher Blutwellenschreiber an der r. Carotis. Tracheotomie. Ösophagotomie.

Zeit	Blutdruck in mm Hg	Pulsfrequenz pro Minute	Bemerkungen
12h 05′	80	240	
12h 17′	78	250	
12h 25′	—	—	1,9 g in 40 ccm Wasser per os, 1 g pro kg
12h 31′	85	240	
12h 38′	82	—	C.-R. erloschen
12h 55′	75	250	
1h 05′	70	—	
1h 20′	63	240	
1h 32′	60—90	—	Erstickung
1h 50′	55	—	

Betrachtet man die vorstehenden Tabellen, so ergibt sich aus Tabelle X, daß der, infolge der intravenösen Ätherdarreichung sehr hohe Blutdruck von etwa 200 mm nach Aleudrindarreichung in mehr als der tödlichen Dosis und Aufhören der Ätherzufuhr in maximo einen Abfall von noch nicht 15% erfährt und noch nach 2 Stunden sich unter künstlicher Respiration in Wellen bewegt, deren Kulminationspunkt die unter Ätherzufuhr erreichten Maximalwerte erreicht, während der tiefste Punkt des Wellentals etwa 25% unter diesem Wert liegt, im Mittel also ein Absinken um nur 12% besteht. Es handelt sich hier nur um eine Erniedrigung, wie sie bei lange aufgebundenen Tieren auch ohne weitere Eingriffe zur Beobachtung kommt und die geringer ist als man sie nach Aufhören der Ätherzufuhr erwarten sollte. Die Frequenz erfährt keine nennenswerte Veränderung.

Tabelle XI, bei der die 3fach tödliche Dosis verabreicht wurde, zeigt einen Abfall von maximal 43% und eine Ab-

nahme der Frequenz. Außerdem zeigt sie die durch die sehr große Dosis hervorgerufene Narkose des Atemzentrums, da schon geringe Erschwerungen der Exspiration hinreichen, einen Atemstillstand hervorzurufen. Daß außerdem auch das vasomotorische Zentrum gelähmt ist, zeigt sich sehr deutlich, da während der wiederholt eintretenden Atemstillstände niemals ein Anstieg des Blutdruckes, sondern stets nur ein rapides Absinken ohne Erstickungskrämpfe zu beobachten war. Wie wenig das Herz selbst durch übergroße Dosen der Substanz angegriffen wird, erleuchtet daraus, daß es die durch Erstickung bewirkte enorme Blutdrucksenkung bis zu 18 mm in kurzer Zeit wieder kompensieren konnte.

Bei Tabelle XII wurde das Mittel direkt in die Blutbahn gebracht, und zwar, nachdem sich die Dosis von 0,03 g als unwirksam auf die Blutverteilung erwiesen hatte, in Dosen von 0,059 g, also Mengen, die auch bei stomachaler Darreichung schon eine deutliche Wirkung zeigen. Insgesamt wurde 0,27 g pro Kilogramm, d. i. eine auch per os stark narkotische Dosis gegeben. Die größte Blutdrucksenkung, die hier zur Beobachtung kommt, ist, abgesehen von unmittelbar in Anschluß an die Injektion eintretenden Schwankungen, eine Erniedrigung um nur 14%.

Ferner geht aus der Tabelle hervor, daß noch zu einem Zeitpunkt, zu dem Erstickung schon keine Blutdrucksteigerung mehr hervorruft, Bauchmassage und Aortenkompression einen Anstieg des Blutdruckes weit über die Norm hinaus bewirken, der Herzmuskel also noch seine ungeschwächte Beanspruchungsfähigkeit besitzt.

Es geht aus den Versuchen an Katzen mit Sicherheit hervor, das soweit das Aleudrin überhaupt Einwirkungen auf den Blutdruck hervorruft, diese auf vasomotorische Verschiebungen zurückzuführen sind, und zwar dürfte es sich um eine geringe Erweiterung der Gefäße im Splanchnikusgebiet handeln.

Die an Kaninchen vorgenommenen Versuche ergaben im wesentlichen das gleiche Resultat (Tabelle XIII bis XV). Bei der hier stets verwendeten noch nicht tödlichen Dosis von 1 g pro Kilogramm reagierten die Tiere auch noch auf Erstickung mit einer Steigerung des abgesunkenen Blutdruckes bis über die Norm hinaus.

Versuche an Menschen.

Aus einigen orientierenden Versuchen an Menschen sei nur gesagt, daß Dosen von 0,5 g Aleudrin gewöhnlich eine ausgesprochene Beruhigung, solche von 1,0 g meist mehrstündigen ruhigen Schlaf erzeugen. Das Einschlafen erfolgt nach vorhergehenden normalen Ermüdungsgefühl. Nach dem Erwachen besteht keine Dumpfheit, sondern ein angenehmes Gefühl des Ausgeschlafenseins. Es ist anzunehmen, daß das Mittel auch bei Schlaflosigkeit, infolge körperlicher Schmerzen, seine Wirkung entfalten wird, jedoch muß hier sicher zu größeren Dosen geschritten werden. Daß dies unbeschadet geschehen kann, beweist mir ein Fall, bei dem zur Bekämpfung einer Schlaflosigkeit, infolge nervöser Depression, die unnötig hohe Dosis von 3,0 g genommen wurde und danach 8stündiger ruhiger Schlaf ohne irgendwelche Neben- oder Nachwirkung beobachtet wurde.

Ausführlichere klinische Beobachtungen werden demnächst von anderer Seite mitgeteilt werden.

Aus all dem geht jedenfalls hervor, daß wir im Aleudrin ein neues Einschläferungs- und Beruhigungsmittel haben, das das Postulat, bei guter schlafmachender Wirkung die übrigen Organfunktionen möglichst wenig zu beeinflussen, im weitgehendsten Maße erfüllt.

Über Oryzanin, ein Bestandteil der Reiskleie und seine physiologische Bedeutung.

Von

U. Suzuki, T. Shimamura und S. Odake.

(Aus dem Agricultural College, Imperial University, Tokio.)

(Eingegangen am 1. Juni 1912.)

Mit 7 Figuren im Text und 1 Tafel.

I. Einleitung.

Im Jahre 1897 hat Eijkmann[1]) zum ersten Male beobachtet, daß Hühner durch ausschließliche Fütterung mit geschältem, sorgfältig von der Silberhaut befreitem Reis in kurzer Zeit den Appetit verlieren und unter starker Abmagerung zugrunde gehen. Er hat ferner darauf aufmerksam gemacht, daß diese Erscheinung mit der Beriberi-Krankheit des Menschen große Ähnlichkeit hat. Werden die Hühner mit ungeschältem Reis oder mit geschältem Reis und Kleie gefüttert, so bleiben sie nicht nur am Leben, sondern selbst die erkrankten werden bald damit geheilt.

Seine Beobachtung ist später von verschiedenen Autoren nachgeprüft und bestätigt worden. Über die Ursache derselben gibt es jedoch keine befriedigende Erklärung, so daß die Meinungen weit auseinander gehen.

Nach Eijkmann ist diese Erscheinung eine Vergiftung durch irgendeinen Giftstoff im Stärkemehl von geschältem Reis, oder Gifte, die sich bei der Gärung von Stärkemehl in den Verdauungsorganen oder durch anomalen Stoffwechsel im Körper erzeugen. Nach Maurer[2]) ist diese Krankheit eine Vergiftung durch Gärungsprodukte von Stärkemehl

---

[1]) C. Eijkmann, Eine beriberiähnliche Krankheit der Hühner. Virchows Archiv **148**, 523, 1897. — Ein Versuch zur Bekämpfung der Beriberi. Virchows Archiv **149**, 187, 1897. — Arch. f. Hygiene **1906**.

[2]) Maurer, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene **13**, Heft 8 u. 9, 1909.

in den Verdauungsorganen, besonders durch Oxalsäure. Sakaki[1]) glaubte, daß sie durch die Einwirkung der Giftstoffe, die durch Einwirkung der Bakterien auf geschältem Reis entstehen, verursacht werde. Dagegen schrieb Matsushita[2]) die Schuld dem Mangel an Eiweiß zu, Schaumann[3]) dem Mangel an organischen Phosphorverbindungen.

Wir wollen hier nicht in einzelne Details eingehen. Die Geschichte der Beobachtungen, Literatur usw. findet man in der „Mitteilung der Kakke-Studienkommission des japanischen Kriegsministeriums" (1911).

Man kann nur mit Sicherheit sagen, daß die Reiskleie irgendeinen Stoff enthält, der fähig ist, die erkrankten Tiere wieder zu heilen oder der Erkrankung vorzubeugen. Was für ein Stoff ist das nun? Wir haben seit 4 Jahren, teils gemeinsam mit Herren Direktor Y. Kozai und Dr. Ando[4]) und teils mit Dr. Kitao[5]) und Watanabe u. a. auf diesem Gebiete gearbeitet. Nachdem wir die Beobachtung von Eijkmann nachgeprüft und bestätigt hatten, gingen wir einen Schritt weiter, um den wirksamen Stoff der Kleie zu isolieren und die chemische Natur desselben genauer kennen zu lernen.

Wir stellten zunächst folgendes fest:

1. Der ätherische Extrakt der Kleie hat keine Wirkung; die entfettete Kleie ist ebenso wirksam wie nichtentfettete Kleie.

2. Wird die entfettete Kleie mit heißem Alkohol wiederholt extrahiert, so geht der wirksame Stoff in die alkoholische Lösung über und der Rückstand erweist sich vollständig wirkungslos[6]).

---

[1]) Sakaki, Untersuchungen über giftigen Reis. Tokio 1902.

[2]) Matsushita, Über die Ätiologie der Kakke-Krankheit. Zeitschr. f. Hyg. u. Bakt. **2**, 437, 1906 (japanisch).

[3]) Schaumann, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhygiene **12** (Beiheft), 1908; **13**, 1909. Vgl. auch Nocht, Über den gegenwärtigen Stand der Beriberi-Frage. Ibidem **12**, 15.

[4]) Kozai, Ando, Suzuki und Shimamura, Über die sogen. „beriberiähnliche Krankheit" der Vögel. Special Bulletin of the Agricultural Experiment Station. Tokio 1910.

[5]) Suzuki, Shimamura, Kitao u. a., Journ. of the Tokyo chem. society **32**, Nr. 1, 2, 4, 9 (Jan., Febr., April u. Sept. 1911); **33**, Nr. 2 (Febr. 1912).

[6]) Vgl. H. Fraser und A. Stauton, Studies from the Institute for medical Research. Federated Manila States 1909. — Y. Ternuchi, Mitteilung der Kakke-Studienkommission des japan. Kriegsministeriums 1911. — Z. Suzuki, ibidem.

Da der geschälte Reis sehr arm an anorganischen Bestandteilen, wie Phosphor, Eisen, Calcium, Magnesium, Kalium usw. ist, so haben wir zuerst geglaubt, daß die Tiere durch Mangel an Mineralstoffen leiden müssen, wenn sie ausschließlich mit geschältem Reis gefüttert werden. Diese Annahme kann aber kaum richtig sein, weil der mit Äther und Alkohol extrahierte Rückstand der Kleie immer noch reich an Eiweiß, Stärke, Faser, Phytin, Salzen usw. ist. Ferner haben wir festgestellt, daß Casein, Pepton, Eieralbumin, Lecithin, Phytin, anorganische Salze usw. keine Schutz- oder Heilwirkung gegen die Krankheit haben. Nach Kajiura[1]) hat das in Alkohol lösliche Eiweiß der Gerste keine spezifische Wirkung.

3. Der alkoholische Extrakt der Kleie stellt einen sauer reagierenden, dick-braunen Sirup dar, der sehr reich an Zucker, organischen Säuren, Lecithin, Salzen und anderen Verunreinigungen ist. Wird nun dieser alkoholische Extrakt in wenig Wasser gelöst, mit Schwefelsäure schwach angesäuert und mit Phosphorwolframsäure versetzt, so entsteht ein flockiger Niederschlag, der die Hauptmenge des wirksamen Stoffes mitreißt, während Zucker, organische Säuren und andere Verunreinigungen meistens in der Mutterlauge zurückbleiben. Durch Zerlegung dieses Niederschlags durch Baryt erhält man einen schwach sauren, hellbraunen Sirup, der etwa 10 mal wirksamer als der alkoholische Extrakt ist. Für dieses Präparat haben wir den Namen „Rohoryzanin I“ gewählt[2]).

4. Wenn man das Rohoryzanin (I) in wenig Wasser löst und mit Tannin versetzt, so wird ein Teil des Oryzanins gefällt. Nach Zerlegung dieses Tanninniederschlages durch Baryt und Entfernung des überschüssigen Baryts mittels Schwefelsäure erhält man einen hellbraunen Sirup (Rohoryzanin II), der nunmehr dreimal wirksamer als Rohoryzanin (I) ist[3]).

Ein ziemlich reines Präparat kann man auch aus alkoholischem Extrakt unmittelbar durch Tanninfällung erhalten.

---

[1]) Kajiura und O. Rosenheim, A Contribution to the Etiology of Beriberi. Journ. Hyg. (Cambridge) 10, Nr. 1, 49—55, 1910.

[2]) Diese Beobachtung ist schon in The Journ. of the Tokyo chem. society 32, Nr. 1 (Jan. 1911) mitgeteilt.

[3]) Journ. of the Tokyo chemical society 32, Nr. 4 und 9 (April und September 1911).

Vor kurzem ist es uns gelungen, aus Rohoryzanin (II) mittels Pikrinsäure den wirksamen Stoff Oryzanin in reinem Zustande zu isolieren[1]). Da die Ausbeute des Pikrats sehr geringfügig ist, sind wir noch nicht imstande, die chemische Natur desselben aufzuklären. Wir hoffen aber, bald darüber Näheres mitteilen zu können.

5. Wird nun 0,005 bis 0,01 g des aus diesem Pikrate dargestellten Oryzanins einer durch ausschließliche Reisfütterung erkrankten Taube per os gegeben oder subcutan eingespritzt, so wird das Tier in einigen Tagen geheilt, der Appetit kommt bald zurück und das Körpergewicht nimmt nach und nach zu. Man kann die Taube beliebig lange am Leben erhalten, wenn man dem geschälten Reis täglich 0,005 bis 0,01 g Oryzanin zugibt. Ohne dies geht das Tier in 2 bis 3 Wochen zugrunde. Da eine Taube von ca. 300 g Körpergewicht täglich 25 bis 30 g Reis frißt, so macht das Oryzanin nur $^1/_{2500}$ bis $^1/_{5000}$ des Futtermittels aus. Es ist eine auffallende Tatsache, daß eine so kleine Menge des Oryzanins einen so großen Einfluß auf die Ernährung des Tieres hat.

6. Es fragt sich nun, ob das Oryzanin bei anderen Tieren auch eine ebenso wichtige Rolle spielt wie bei Tauben. Bei Hühnern, Mäusen und Hunden haben wir beobachtet, daß das Verhalten des Oryzanins genau dasselbe ist wie bei Tauben. Mäuse sterben gewöhnlich in 10 bis 15 Tagen, wenn sie ausschließlich mit geschältem Reis gefüttert werden. Sie bleiben aber längere Zeit gesund und normal, wenn man den alkoholischen Extrakt der Kleie oder das Rohoryzanin zugibt.

Wenn man Hunde mit gekochtem Reis und ausgekochtem Rückstand des Pferdefleisches füttert, so beobachtet man am Anfange keine Störung. Erst 2 bis 3 Wochen später geht der Appetit nach und nach zurück und nach 5 bis 7 Wochen gehen die Tiere unter starker Abmagerung zugrunde. Nur 3 bis 4 g alkoholischer Extrakt der Kleie oder 0,3 bis 0,4 g Rohoryzanin (I) kann einen absterbenden Hund in ein paar Tagen heilen. Der Appetit kommt bald zurück und das Körpergewicht nimmt sehr rasch zu. Wird die Oryzaninzugabe eingestellt, so wird das Tier wieder krank. Mit einem aus-

[1]) Ibidem **33**, Nr. 2 (Febr. 1912).

gewachsenen Hunde haben wir in 7 Monaten 4 mal denselben Versuch wiederholt.

Da die Fette oder Salze keinen merkbaren Einfluß in diesen Fällen zeigen, so nehmen wir an, daß das Oryzanin einen für Erhaltung des tierischen Lebens unentbehrlichen Stoff bildet. Mit reinem Eiweiß, Fett, Kohlenhydraten und Salzen konnten die Tiere nicht längere Zeit am Leben erhalten werden. Es fehlt noch Oryzanin dazu.

Um diese Annahme weiter zu stützen, haben wir Tauben und Mäuse mit einem Futtergemisch gefüttert, das aus einzelnen isolierten Nährstoffen zusammengestellt war. Zwei Tauben wurden mit Kartoffelstärke, Pepton, Lecithin, Phytin und Salzen gefüttert; zwei andere bekamen noch dazu 0,03 g Rohoryzanin (I). Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war auffallend. Die ersten 2 Tauben gingen in 10 bis 15 Tagen unter starker Abmagerung zugrunde, während die letzteren nicht nur vollständig gesund blieben, sondern sogar bedeutend an Körpergewicht zugenommen haben. Anstatt Pepton haben wir auch Casein, Eieralbumin und Kleie-Eiweiß angewendet. (Das Kleie-Eiweiß wurde durch verdünntes Alkali aus der Kleie extrahiert und mit Essigsäure gefällt.) Die Ergebnisse waren auch genau dieselben. Ferner haben wir Tauben mit einem eiweißfreien Futtergemisch gefüttert. Die Tiere konnten natürlich nicht lange leben. In kurzer Zeit gingen sie zugrunde. Trotzdem lebten diejenigen, die Oryzanin bekamen, dreimal länger als die, die kein Oryzanin erhielten. Die tägliche Abnahme des Körpergewichts bei den ersten war ungefähr $^1/_3$ des der letzteren.

Welche Rolle das Oryzanin im Tierorganismus spielt, wissen wir gegenwärtig nicht. Es steht nur fest, daß es zur Erhaltung des tierischen Lebens unentbehrlich ist, wenigstens für Tauben, Hühner, Mäuse und Hunde.

Es sei hier erwähnt, daß verschiedene Autoren schon mehrfach Versuche angestellt haben, um die Tiere längere Zeit mit einem künstlichen Futtergemische aus einzelnen isolierten Nährstoffen am Leben zu halten. Die meisten Versuche erwiesen sich als erfolglos. Bloß Röhmann[1]) und Osborne[2]) haben in neuerer Zeit etwas bessere Resultate

[1]) Röhmann, Klin.-therap. Wochenschr. **1902**, Nr. 40 und Allg. med. Zentralztg. **1908**, Nr. 9.

[2]) Osborne, Compt. rend. **34**, Nr. 882, S. 722 bis 732 (24. Nov. 1911).

bekommen. Obgleich es keinem Zweifel unterliegt, daß die Konstitution des Eiweißes, die Mengenverhältnisse und Verbindungsformen der Mineralbestandteile usw. einen großen Einfluß auf das Gelingen der Versuche haben, so darf man doch bei Tierversuchen nie das Oryzanin übersehen. Ohne Zweifel hätten Röhmann und Osborne noch befriedigendere Resultate gehabt, wenn sie in ihren Futtergemischen das Oryzanin zugegeben hätten.

7. Da wir bis jetzt keine zuverlässige Methode ausgearbeitet haben, um das Oryzanin in verschiedenen Futtermitteln zu bestimmen, so blieb uns nichts übrig, als durch Tierversuche die annähernde Menge desselben zu ermitteln. Zu diesem Zwecke wurde den Tauben mit verschiedenen Futtermitteln zusammen geschälter Reis gegeben. In dieser Weise haben wir festgestellt, daß Weizen- und Gerstenkleie, Bohnen, Hirse, Hafer, Gemüse usw. imstande sind, die Tiere längere Zeit am Leben zu halten, ohne an Körpergewicht zu verlieren. Interessant ist, daß die sorgfältig entkleiete Gerste nach dem Kochen und Waschen mit Wasser immer noch fähig war, die Tiere mehr als 100 Tage gesund zu halten. Auch gewöhnliches Weizenbrot erwies sich als wirksam.

In Miso, Schoyu, Bier und Sake haben wir kein Oryzanin nachgewiesen.

Ob der wirksame Stoff in verschiedenen Futtermitteln immer mit dem Oryzanin der Reiskleie identisch ist, oder ob es sich um eine Körperklasse handelt, können wir gegenwärtig noch nicht entscheiden.

Milch, Eier, Fisch und Pferdefleisch als solche, oder der alkoholische Extrakt derselben haben fast keine Wirkung auf Tauben gezeigt. Bei Hunden und Mäusen war das Verhalten etwas anders. Der alkoholische Extrakt des Pferdefleisches war für Hunde ebenso wirksam wie das Oryzanin. Für Mäuse war der letztere etwas ungünstiger, trotzdem konnten wir in einigen Fällen die Mäuse mehr als 50 Tage vollkommen gesund erhalten (bei Zugabe des alkoholischen Extrakts des Pferdefleisches mit geschältem Reis zusammen).

Der alkoholische Extrakt der Milch war auch fähig, Mäuse mehr als 50 Tage gesund zu halten, während der Rückstand desselben sich als vollständig unwirksam erwies.

Es soll deshalb unsere zukünftige Aufgabe sein, die wirksamen Stoffe aus verschiedenen Futtermitteln zu isolieren und

ihre chemische Natur und physiologischen Funktionen zu studieren.

II. Darstellung des Oryzanins.

300 g entfettete Reiskleie werden in einem Rundkolben mit 1 l Äthylalkohol (85 bis 90%) am Rückflußkühler 3 Stunden lang gekocht. Man filtriert heiß ab, kocht den Rückstand noch 1 Stunde mit ½ l Alkohol und saugt wieder ab; diese Operation wird 4 mal wiederholt. Die gesamten alkoholischen Auszüge werden nun unter vermindertem Druck so lange eingedampft, bis der Alkohol vollständig ausgetrieben ist. Der zurückgebliebene dick-braune Sirup wird wiederholt mit Äther geschüttelt, um die Fette, organischen Säuren, Lecithine und andere Verunreinigungen zu entfernen, und weiter bei gelinder Wärme eingedampft. So erhält man einen ziemlich stark sauer reagierenden braunen Sirup, den wir der Einfachheit halber als „alkoholischen Extrakt" bezeichnen. Die Ausbeute desselben beträgt ungefähr 30 g, d. h. ca. 10% des Ausgangsmaterials[1]).

Der alkoholische Extrakt wird nun mit Wasser auf 100 ccm verdünnt und mit so viel Schwefelsäure angesäuert, bis sie ungefähr 3% der Flüssigkeit ausmacht, und mit einer 30%igen Phosphorwolframsäurelösung versetzt. Es entsteht dabei ein brauner flockiger Niederschlag in reichlicher Menge. Dazu sind etwa 20 bis 30 ccm Phosphorwolframsäurelösung notwendig. Ein Überschuß des Reagens ist zu vermeiden. Nach einigen Stunden wird der Niederschlag abgesaugt, mit 3%iger Schwefelsäure einmal gewaschen, dann bringt man den Niederschlag in einen Mörser, gibt etwas Wasser zu und verreibt mit überschüssigem Barythydrat, bis der dicke Brei stark alkalisch reagiert (oder man löst den Niederschlag in acetonhaltigem Wasser und gibt so viel Barythydrat zu, bis die Flüssigkeit stark alkalisch reagiert). Nach einiger Zeit saugt man ab und behandelt den Rückstand noch 3 mal in derselben Weise. Das gesamte Filtrat

---

[1]) Aus heißem alkoholischen Auszug scheidet sich beim Erkalten ein weißer, flockiger Niederschlag ab, der mit wenig warmem Alkohol gewaschen, in heißem Benzol gelöst und durch Zusatz von Alkohol gereinigt wird. Es bildet ein schuppenförmiges Pulver mit wachsähnlichem Glanz und schmilzt bei 84° C. Die Analyse gab C = 80,44, H — 13,33%. Die einfachste Formel wäre dann $C_{27}H_{54}O$.

wird nun durch Schwefelsäure sorgfältig von Baryt befreit und bei niederer Temperatur unter vermindertem Druck eingedampft. Es bleibt dabei ein schwach saurer, hellbrauner Sirup zurück, der beim Trocknen über Schwefelsäure in eine harzartige Masse sich verwandelt. Wir haben für dieses Präparat den Namen „Rohoryzanin" (I) vorgeschlagen. (Früher nannten wir es „Aberisäure". Da aber das reine Oryzanin keine saure Natur besitzt, so haben wir den Namen fallen lassen.) Die Ausbeute an Rohoryzanin (I) beträgt ca. 1,2 g aus 300 g Kleie, d. h. 0,4 % des Ausgangsmaterials.

Wird nun 0,03 bis 0,04 g Rohoryzanin (I) in wenig Wasser gelöst und einer durch ausschließliche Reisfütterung erkrankten Taube per os eingegeben oder subcutan eingespritzt, so wird das Tier schon am nächsten Tage munter. Der Appetit kommt zurück, das Körpergewicht steigt und nach 3 bis 4 Tagen bemerkt man keine Zeichen der Erkrankung mehr. Bekommt das Tier nur die halbe Dosis, so bleibt es längere Zeit am Leben, ohne jedoch vollständig geheilt zu werden. Das Körpergewicht steigt nicht. Eine größere Menge Oryzanin hat keine schädliche Wirkung. Wir haben einmal 5 g alkoholischen Extrakt einer Taube gegeben, ohne irgendeine Störung zu beobachten. Die Wirkung des Rohoryzanins (I) ist deshalb ungefähr 10 mal größer als die des alkoholischen Extrakts selbst, d. h. 0,03 g des ersteren wirkt ebenso gut wie 0,3 g des letzteren.

Das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag war beinahe frei von Oryzanin. Wenn man das Filtrat mit soviel Barythydrat versetzt, bis es schwach alkalisch reagiert, so wird die Schwefelsäure sowie die Phosphorwolframsäure vollständig gefällt. Wird nun der dabei entstandene Niederschlag abgesaugt und der Überschuß von Baryt durch Schwefelsäure sorgfältig entfernt, klar abfiltriert und bei niederer Temperatur unter vermindertem Druck eingedampft, so bleibt ein hellbrauner Sirup zurück. Dieses Präparat hat nun keine Schutz- oder Heilwirkung mehr auf erkrankte Tauben. Es scheint also, daß der Hauptanteil des Oryzanins durch Phosphorwolframsäure gefällt wird, und was noch in Lösung geblieben war, durch weitere Behandlung beinahe verloren gegangen ist.

---

[1]) U. Suzuki und P. Schimanura, Journal of the Tokyo chemical society 32, Nr. 2, Januar 1911.

Reaktionen des Rohoryzanins (I).

Das in obenerwähnter Weise dargestellte Rohoryzanin (I) löst sich in Wasser und in verdünntem Alkohol sehr leicht. Die Lösung reagiert schwach sauer, gibt keine Biuretreaktion; mit Millonschem Reagens erwärmt, färbt sich die Lösung dunkelrot; aus konzentrierter Lösung entsteht sogar eine rotbraune Fällung. Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure ruft in angesäuerter Lösung von Oryzanin eine flockige Fällung hervor; Fehlingsche Lösung gibt bei gewöhnlicher Temperatur eine schmutzig-grüne Färbung, beim Erwärmen entsteht ein flockiger Niederschlag. Mit Natronkalk erhitzt, entwickelt sich Ammoniak. Werden einige Tropfen Neßlerschen Reagens der Oryzaninlösung zugesetzt, so wird die Flüssigkeit bei gewöhnlicher Temperatur allmählich rotbraun und beim Erwärmen gibt sie einen dunkelbraunen Niederschlag. Beim Glühen hinterläßt das Rohoryzanin keine Asche.

Eine charakteristische Reaktion für Rohoryzanin (I) ist jedoch die „Diazoreaktion". Wird frisch bereitete p-Diazobenzolsulfonsäure in etwa 100 Teilen ganz verdünnter Natronlauge gelöst (die Lösung soll nur schwach gelb gefärbt sein), und werden einige Tropfen Rohoryzaninlösung zugefügt, so nimmt die Flüssigkeit sofort eine blutrote Färbung an und zugleich merkt man eine geringe Schaumentwicklung. Nach 5 bis 10 Minuten erreicht die Farbe Maximumintensität, die einige Tage unverändert andauert.

Phosphormolybdänsäure gibt eine weißlichgrüne Färbung; durch Zusatz von Ammoniak wird der Niederschlag gelöst, die Flüssigkeit nimmt dabei eine tiefe indigoblaue Färbung an. Eine blaue Jod-Stärke-Lösung wird durch Zusatz von einigen Tropfen Oryzanin sofort entfärbt.

Eine konzentrierte wässerige Lösung des Oryzanins wird durch Bleiessig teilweise gefällt, durch Zusatz von Ammoniak wird die Fällung vollständiger, Quecksilberchlorid, -acetat und -nitrat oder Gerbsäure geben dabei eine unvollständige Fällung.

Spaltungsprodukte des Rohoryzanins (I).

Durch verdünnte Mineralsäuren oder Alkalien wird das Oryzanin leicht gespalten, die eigentümliche Wirkung geht dabei vollständig verloren. Emulsin wirkt auch allmählich auf

Oryzanin ein. Ohne Zweifel ist das Oryzanin eine sehr labile Verbindung; daraus kann man die Beobachtung von Eijkmann, Shiga[1]) u. a., daß längere Zeit aufbewahrte oder verschimmelte Kleie keine Schutz- oder Heilwirkung mehr besitzt, leicht erklären.

Wenn man 1 g Rohoryzanin mit 100 ccm 3°/₀iger Salz- oder Schwefelsäure 2 Stunden lang erhitzt, so wird die klare Flüssigkeit allmählich trüb, und auf der Oberfläche der Flüssigkeit scheidet sich eine harzartige Substanz ab. Filtriert man nun heiß ab und läßt das Filtrat einige Stunden stehen, so scheiden sich gelbbraune Krystalle in kleiner Menge aus; sie werden abgesaugt, mit wenig kaltem Wasser gewaschen und aus heißem Alkohol umkrystallisiert. Aus alkoholischer Lösung erhält man zwei verschiedene Sorten Krystalle; sie lassen sich durch ungleiche Löslichkeit in Alkohol leicht voneinander trennen. Sie werden vorläufig als α- und β-Säure bezeichnet; die erstere ist in Alkohol viel schwerer löslich als die letztere. Sie werden nochmals für sich aus heißem Alkohol umkrystallisiert, mit wenig Alkohol und Äther gewaschen, im Vakuum bei 100° getrocknet und analysiert. (Aus alkoholischer Lösung scheiden sich die Krystalle durch Zusatz von wenig Salzsäure viel leichter aus.)

Analyse der α-Säure.

1.	0,1129 g Subst.	0,2206 g CO_2	0,0426 g H_2O
2.	0,0935 g „	0,1826 g „	0,0373 g „
3.	0,1514 g „	0,2960 g „	0,0598 g „
4.	0,0722 g „	4,4 ccm N (18°, 766 mm)	
5.	0,0963 g „	5,7 „ N (17°, 764 „)	

		C	H	N
$C_{10}H_8NO_4$ . . .	Ber.	53,46	3,96	7,93
	Gef.	53,29	4,19	7,19
	„	53,26	4,43	—
	„	53,32	4,39	6,91

Analyse der β- Säure.

1.	0,1267 g Subst.	0,2676 g CO_2	0,0419 g H_2O
2.	0,1244 g „	0,2640 g „	0,0431 g „
3.	0,1005 g „	0,2128 g „	0,0354 g „
4.	0,1509 g „	9,0 ccm N (21°, 763 mm)	

		C	H	O
$C_{18}H_{16}N_2O_9$ . . .	Ber.	58,25	3,88	6,60
	„	57,60	3,68	6,82
	Gef.	57,88	3,85	—
	„	57,71	3,91	—

[1]) Shiga und Kusama, Mitteilung der Kakke-Studienkommission d. jap. Kriegsministeriums 1911.

Die beiden Säuren sind in kaltem Wasser schwer, in heißem Wasser etwas leichter löslich; die wässerige Lösung reagiert ziemlich stark sauer. In Alkohol oder in Alkalien werden sie leicht gelöst und durch Zusatz von Säuren werden sie wieder ausgeschieden. Die beiden Säuren geben eine intensive Diazoreaktion; sie geben auch eine tief indigoblaue Färbung mit Phosphormolybdänsäure und Ammoniak. Eine blaue Jod-Stärke-Lösung wird sofort entfärbt. Sie geben auch starke Millonsche Reaktion. Kurzum, die charakteristischen Reaktionen des Rohoryzanins (I) werden durch diese beiden Säuren hervorgerufen.

Unter den Spaltungsprodukten des Rohoryzanins (I) fanden wir außer diesen beiden Säuren noch ziemlich viel Cholin und Traubenzucker, nebst einer organischen Säure, die wir später als Nicotinsäure (m-Pyridincarbonsäure) identifiziert haben. Die Menge des Cholins und der Nicotinsäure scheint bei verschiedenen Kleiesorten sehr verschieden zu sein. Wenn die Mutterlauge der α- und β-Säure mit Phosphorwolframsäure versetzt wird, so entsteht ein weißer flockiger Niederschlag, der nach einiger Zeit sich auf den Boden absetzt. Nach Zerlegung dieses Niederschlages durch Baryt und Entfernung des überschüssigen Baryts mittels Schwefelsäure erhält man eine alkalisch reagierende Flüssigkeit, die Cholin und Nicotinsäure enthält. Wird nun diese Flüssigkeit mit Pikrinsäure versetzt, so scheidet sich das Nicotinsäurepikrat zuerst aus und nach dem Einengen der Mutterlauge krystallisiert das Cholinpikrat als lange gelbe Prismen aus. Da das erstere in Wasser viel schwerer löslich als das letztere ist, so lassen sich die beiden Pikrate leicht voneinander trennen. Die Ausbeute an Nicotinsäurepikrat beträgt ca. 0,5 g aus 4 g Rohoryzanin (= 1 kg Ausgangsmaterial).

I. Nicotinsäurepikrat.

Aus heißem Wasser scheidet sich das Pikrat in hellgelben kurzen Stäbchen ab. Es schmilzt bei 214^{0} (unkorr.) unter Zersetzung.

Analyse des Pikrates.

1. 0,1602 g Subst. gaben 0,2376 g CO_2, 0,0348 g H_2O
   0,1291 g „ „ 19,0 ccm (21,5^{0}, 757 mm)
   0,1076 g „ „ 0,0705 g Pikrinsäure
2. 0,1511 g „ „ 0,2254 g CO_2, 0,0350 g H_2O
   0,1342 g „ „ 18,2 ccm N (12^{0}, 763,5 mm)

		C	H	N	Pikrinsäure
$C_6H_5NO_2C_6H_3N_3O_7$ . .	Ber.	40,91	2,27	15,91	65,06
	Gef.	40,45	2,41	16,50	65,50
	„	40,68	2,57	16,09	—

Freie Nicotinsäure erhält man, indem das Pikrat in Wasser gelöst, mit wenig Schwefelsäure angesäuert und wiederholt mit Äther geschüttelt wird, um die Pikrinsäure zu entfernen. Nach Entfernung der Schwefelsäure durch Baryt dampft man die wässerige Lösung bei gelinder Wärme ein bis die freie Nicotinsäure in farblosen Nadeln sich ausscheidet. Nach einiger Zeit saugt man ab und wäscht mit wenig Alkohol und Äther.

Die freie Säure reagiert ziemlich stark sauer, wird durch Phosphorwolframsäure gefällt. Im Capillarrohr erhitzt, schmilzt sie bei 228 bis 229° (unkorr.).

Analyse der freien Säure.

0,1394 g Subst. gaben 0,2983 g CO_2, 0,0542 g H_2O
0,0707 g „ „ 7,05 ccm N (14°, 764,5 mm)

		C	H	N
$C_6H_5NO_2$	Ber.	58,54	4,07	11,38
	Gef.	58,36	4,32	11,80

Ferner wurde das Kupfersalz sowie das Platinchloriddoppelsalz der Nicotinsäure dargestellt und analysiert. Alle diese Präparate waren mit denen aus reiner Nicotinsäure dargestellten vollständig identisch.

II. Cholinpikrat.

Cholinpikrat scheidet sich aus stark konzentrierter Mutterlauge des Nicotinsäurepikrates in großen gelbbraunen Prismen ab. Im Capillarrohr erhitzt, verwandelt sich die gelbe Farbe bei ca. 100° ins Orangerote und zersetzt sich bei 240° (unkorr.) unter Schäumen. Die Ausbeute an Cholinpikrat beträgt im besten Falle ca. 2 g aus 4 g Rohoryzanin (I) (= 1 kg Kleie).

Die Analyse des im Vakuum bei 100° getrockneten Salzes gab folgende Zahlen:

Analyse des Pikrates.

1. 0,1493 g Subst. 21,5 ccm N (12°, 756 mm)
2. 0,4928 g „ 0,3414 g Pikrinsäure

		N	Pikrinsäure
$C_5H_{14}NO.C_6H_2N_3O_7$	Ber.	16,87	68,97
	Gef.	17,00	69,28

Aus dem Pikrat wurde das Platinchloriddoppelsalz des Cholins dargestellt, indem das Pikrat in wenig Wasser suspen-

diert, mit wenig Salzsäure angesäuert und wiederholt mit Äther geschüttelt wurde, um die Pikrinsäure vollständig zu entfernen. Die farblose Lösung wurde nun stark eingeengt und mit einem kleinen Überschuß von Platinchloridlösung versetzt. Es schied sich dabei das charakteristische Doppelsalz des Cholins aus, das bei 230 bis 232° (unkorr.) unter Verkohlung schmolz. Das Platindoppelsalz wurde einmal aus Wasser umkrystallisiert, im Vakuum bei 100° getrocknet und analysiert.

Analyse des Platinchloriddoppelsalzes des Cholins.

1. 0,2362 g Subst. 0,0736 g Pt

		Pt
$(C_5H_{14}NO.Cl)_2PtCl_4$	Ber.	31,54
	Gef.	31,54

Wir haben ferner aus reinem Cholin (Kahlbaum) das Pikrat und das Platinchloriddoppelsalz dargestellt und fanden, daß sie mit unserem Präparat vollständig identisch waren.

III. Traubenzucker.

Aus dem Filtrat vom phosphorwolframsauren Niederschlag der Nicotinsäure und des Cholins haben wir nach dem Entfernen der Phosphorwolframsäure durch Baryt eine reichliche Menge Glucose als Osazon isoliert. Dieses Osazon war nach einmaligem Umlösen in heißem verdünntem Alkohol chemisch rein, hatte einen Schmelzpunkt von 202° (unkorr.) und zeigte die charakteristischen Krystallformen.

Wir haben auch die Menge der Spaltungsprodukte annähernd bestimmt. Aus 100 Teilen Rohoryzanin (I) wurden 10 T. α- und β-Säure, 30 T. Cholin und Nicotinsäure, 23 T. Traubenzucker, außerdem etwas harzartige schwarzbraune Substanz gewonnen.

1 g Rohoryzanin gibt nach der Spaltung mit Säure
- 0,044 g Gesamtstickstoff,
- 0,035 g durch Phosphorwolframsäure fällbaren Stickstoff,
- 0,009 g Stickstoff in anderer Form (hauptsächlich als α- und β-Säure),
- 0,000 g Ammoniakstickstoff.

Da wir später aus Rohoryzanin (I) ebensoviel Nicotinsäurepikrat isolieren konnten, wie nach dem Erhitzen des ersteren

mit verdünnter Schwefelsäure, so halten wir für wahrscheinlich, daß die letztgenannte Säure in der Kleie in freiem Zustande vorhanden ist.

Ob das Cholin auch als solches in der Kleie vorkommt, oder ob es erst nach dem Erhitzen des Rohoryzanins mit Schwefelsäure entsteht, läßt sich nicht so leicht entscheiden. Es gelang uns jedenfalls nicht, unmittelbar aus Rohoryzanin (I) eine nennenswerte Menge des Cholinpikrates zu isolieren.

Weitere Reinigung des Oryzanins.

Zur weiteren Reinigung werden 4 g Rohoryzanin (I) in 100 ccm Wasser gelöst und mit einer 20 %igen wässerigen Tanninlösung so lange versetzt, bis nur noch schwache Trübung entsteht. Man braucht dazu etwa 15 bis 20 ccm Tanninlösung. Ein Überschuß von Tannin ist zu vermeiden. Die weißlich-braune, flockige Fällung wird abgesaugt, mit wenig 1 %iger Tanninlösung rasch gewaschen. (Ein Überschuß ist zu vermeiden.) Der Niederschlag wird nun auf eine Tonplatte gestrichen, getrocknet und dann in einen Mörser gebracht, mit wenig Wasser verrieben. Man gibt nun so viel Aceton zu, bis der Niederschlag gelöst wird. Hierauf wird so viel gesättigte Barytlösung zugegeben, bis die Flüssigkeit stark alkalisch reagiert, sorgfältig verrieben und abgesaugt. Der Rückstand wird noch zweimal mit Barytwasser verrieben und abgesaugt. Das vereinigte Filtrat wird nun mittels Schwefelsäure von überschüssigem Baryt befreit und im Vakuum eingedampft. Es bleibt dabei ein hellbrauner Sirup in kleiner Menge zurück, der nicht mehr sauer, sondern neutral oder manchmal schwach alkalisch reagiert. Wir bezeichnen diesen Sirup mit „Rohoryzanin (II)“. Die Ausbeute ist sehr gering. Aus 4 g Rohoryzanin (I) wird durchschnittlich nur 0,25 bis 0,3 g erhalten. Dieses Präparat war nun dreimal so wirksam wie Rohoryzanin (I). 0,01 g genügte schon, um eine erkrankte Taube zu heilen oder vor Erkrankung zu bewahren.

Später haben wir dieses Verfahren etwas modifiziert und zwar in folgender Weise:

Der Tanninniederschlag wird in einem Mörser mit 3 %iger Schwefelsäure sorgfältig verrieben, abgesaugt und der Rückstand noch mehrere Male mit Schwefelsäure verrieben. Das

Oryzanin geht dabei in Lösung über. Die gesamte Flüssigkeit wird nun mit einem Überschuß von Baryt versetzt, um Tannin und Schwefelsäure zu entfernen. Der dabei entstandene Niederschlag wird abgesaugt und das Filtrat davon wird nach dem Entfernen des Baryts durch Schwefelsäure bei vermindertem Druck stark eingedampft, mit Äther geschüttelt und weiter eingeengt. In der Weise erhält man einen hellbraunen Sirup, der gewöhnlich wirksamer als Rohoryzanin (II) ist.

Wir haben auch öfters aus dem alkoholischen Extrakt der Kleie unmittelbar durch Tannin das Rohoryzanin gefällt und aus diesem Niederschlag durch weitere Behandlung mit 3%iger Schwefelsäure ein ziemlich wirksames Präparat dargestellt. Oder man kann umgekehrt das Präparat, das man unmittelbar durch Tanninverfahren erhalten hat, mit Phosphorwolframsäure fällen.

Obgleich man in obenerwähnter Weise schon ein ziemlich wirksames Präparat erhalten konnte, konnte man es noch nicht als chemisch rein betrachten, solange es noch nicht krystallisieren wollte.

Nach langen Bemühungen ist es uns geglückt, dies als Pikrinsäuresalz krystallinisch abzuscheiden.

Wird eine konzentrierte wässerige Lösung des Rohoryzanins (II) mit wenig Pikrinsäure verrieben, so scheidet sich das Oryzaninpikrat als gelbbraune, flockige Fällung aus, die beim Stehen in der Kälte krystallinisch wird. Man saugt nun ab, wäscht mit wenig kaltem Wasser und trocknet über Schwefelsäure. Es bildet ein gelbbraunes Pulver. Da das Pikrat nicht leicht krystallisieren will, muß man sehr sorgfältig arbeiten. Gibt man zuviel Pikrinsäure zu, so verwandelt sich das Pikrat zu einer braunen, weichen Masse, oder erwärmt man die Lösung, so löst sich das Pikrat klar auf. Nach dem Erkalten krystallisiert es jedoch nicht mehr aus. Man muß auch damit rechnen, daß das Rohoryzanin (II) immer noch etwas Nicotinsäure als Verunreinigung enthält; sie bildet auch ein Pikrat, das sich schwer vom Oryzaninpikrat trennen läßt. Zu diesem Zwecke gibt man zuerst nur ungenügende Mengen Pikrinsäure zu und verreibt in der Kälte (nicht erwärmen!); es scheidet sich das Oryzaninpikrat aus, während die Nicotinsäure in der Lösung zurückbleibt. Erst nach dem Erwärmen

mit viel Pikrinsäure scheidet sich das Nicotinsäurepikrat aus. Zu weiterer Reinignng des Oryzaninpikrats wird es in wenig kaltem Aceton gelöst, klar abfiltriert und über Schwefelsäure langsam eingedunstet. In der Weise erhält man das Pikrat als gelbbraune, mikroskopisch kleine Nadeln, die meistens sternförmig sich zusammengruppieren (siehe Tafel I). Es löst sich in Äther und Petroläther nicht; in kaltem Wasser ist es ziemlich schwer, in heißem Wasser, Alkohol und Äther aber leichter löslich. Die Ausbeute an Pikrat war leider sehr schlecht; so sind wir noch nicht imstande, die genaue Beschreibung desselben und des freien Oryzanins zu geben. Ob es durch Spaltung α- und β-Säure sowie Cholin, Traubenzucker usw. gibt, muß später untersucht werden.

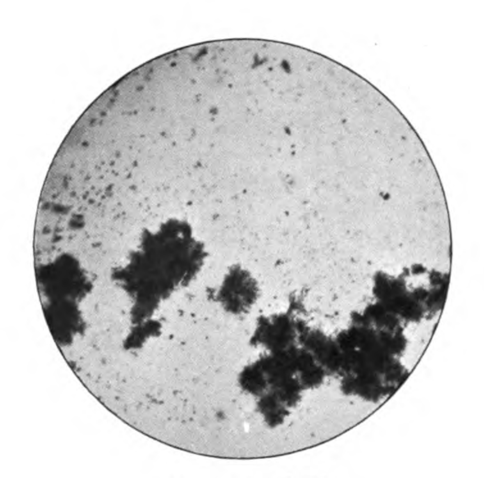
III. Tierversuche.

Bei der Wirkung des Oryzanins auf Tiere ist vor allem zu bemerken, daß z. B. die Tauben bei ausschließlicher Reisfütterung binnen 2 bis 3 Wochen etwa $^1/_3$ des ursprünglichen Körpergewichtes einbüßen und schließlich zugrunde gehen. Eine gesunde Taube von 250 bis 300 g Körpergewicht frißt am Anfang 20 bis 30 g Reis täglich. Ungeschälter Reis oder geschälter Reis mit 3 g Kleie kann das Tier längere Zeit vor Erkrankung hüten oder ein erkranktes in kurzer Zeit wieder heilen.

Der alkoholische Extrakt, den wir in obenerwähnter Weise dargestellt haben, hat auch dieselbe Wirkung wie Kleie selbst, wenn täglich 0,3 g (aus 3 g Kleie) per os oder mit Reis vermischt gegeben wird. Das Rohoryzanin (I), das wir durch das Phosphorwolframsäureverfahren aus alkoholischem Extrakt dargestellt haben, war viel wirksamer als der alkoholische Extrakt selbst. 0,03 g genügen, um eine Taube vor Erkrankung zu hüten oder eine erkrankte zu heilen, d. h. es ist 100mal wirksamer als Kleie.

Das durch das Tanninverfahren weiter gereinigte Präparat ist wieder 3mal wirksamer als Rohoryzanin (I), und das reine Oryzanin, das wir als Pikrat krystallinisch erhalten haben, ist abermals doppelt so wirksam wie das letztere. 0,005 g sind ebenso wirksam wie 3 g Kleie oder 0,3 g alkoholischer Extrakt.

Tafel I.



Oryzaninpikrat
(aus Wasser).

Verlag von Julius Springer
in Berlin.

A. Tauben.

Versuch 1.

Alkoholischer Kleieextrakt.

Hier wurde die Wirkung des alkoholischen Extrakts der Kleie auf Tauben geprüft. Zwei ausgewachsene Tauben wurden erst 4 Tage mit geschältem Reis gefüttert, die nächsten 16 Tage, also vom 5. bis 21., bekamen sie täglich 0,3 g alkoholischen Extrakt dazu, und weitere 15 Tage wieder Reis allein. Solange sie mit alkoholischem Extrakt versehen wurden, blieben sie gesund und munter und nahmen etwas an Gewicht zu; aber bald nachdem der alkoholische Extrakt fortgelassen wurde, fingen sie an abzumagern, verloren nach und nach an Gewicht und erkrankten endlich. Hierauf bekamen sie wieder täglich 0,3 g alkoholischen Extrakt; schon am nächsten Tage erholten sie sich erheblich. Die Eßlust kam wieder zurück und sie erreichten das ursprüngliche Gewicht. Gegen Ende des Versuches haben die Versuchstiere 18 Tage lang bloß destilliertes Wasser anstatt gewöhnlichen Brunnenwassers bekommen, ohne irgendeine Störung zu zeigen.

Aus diesem Versuche kann man schließen, daß der alkoholische Extrakt für die Erhaltung des tierischen Lebens absolut notwendig ist, falls die Tiere ausschließlich mit Reis gefüttert werden.

Versuch 2. (Fig. 1.)

Geschälter Reis mit Rohoryzanin (I) und Salzen.

Mit 1000 g geschältem Reis wurden 1,2 g Rohoryzanin (I), 3,4 g Lecithin (Kahlbaum), 4,3 g Phytin, 2,6 g $CaCO_3$, 0,85 g $CaCl_2$ und 1,7 g Na_2CO_3 vermischt und an zwei Tauben verfüttert. Sie waren 17 Tage vollkommen gesund und nahmen an Körpergewicht zu. Nach 17 Tagen wurde der Versuch unterbrochen.

Tabelle I.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	312	249
3	329	259
5	338	264
7	337	271
9	333	271
11	336	268
13	338	272
15	336	272
17	336	273

Versuch 3. (Fig. 1.)

Rohoryzanin (I).

Zwei Tauben wurden zuerst mit geschältem Reis, Lecithin, Phytin und Salzgemischen gefüttert. Nach 14 Tagen waren sie ermattet und

erkrankt. Nun wurden täglich 0,03 g Rohoryzanin (I) per os gegeben. Schon am nächsten Tage waren sie beinahe geheilt; der Appetit kam wieder zurück. Nach 3 Tagen waren sie vollkommen gesund; das Körpergewicht nahm auch allmählich zu. Nach 17 Tagen wurde der Versuch unterbrochen.

Tabelle II.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Bemerkungen
	1	2	
1	272	305	Ohne Oryzanin
⋮	⋮	⋮	
14	229	236	Erkrankt
15	214	222	Geheilt mit 0,03 g Rohoryzanin (I) täglich
16	229	232	
17	242	233	
19	241	248	
21	242	266	
23	231	267	
25	237	267	
27	242	278	
29	247	284	
31	245	286	Vollständig gesund

Versuch 4. (Fig. 1.)

Daß Oryzanin zum größten Teil durch Phosphorwolframsäure fällbar ist, wird dadurch bewiesen, daß das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag nur noch schwache Wirkung hat. Wenn man das Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag durch Zusatz von Barythydrat von überschüssiger Phosphorwolframsäure und Schwefelsäure befreit und den Überschuß von Baryt wieder durch verdünnte Schwefelsäure vollständig entfernt, klar abfiltriert und unter vermindertem Druck verdampft, so erhält man einen dickflüssigen braunen Sirup, der auf erkrankte Tauben keine Wirkung hat. Die Taube wurde dadurch nicht geheilt, sondern wurde immer schwächer. Nach 6 Tagen wurden 0,03 g Rohoryzanin per os gegeben. Die Wirkung war überraschend. Nach 2 Tagen war die Taube schon gesund, und nach 9 Tagen hatte sie an Körpergewicht um 38 g zugenommen. Nach Einstellen der Oryzaninzugabe magerte das Tier wieder allmählich ab und erkrankte.

Versuch 5. (Fig. 1.)

Rohoryzanin (II).

Zwei Tauben, die vorher bei der Reisfütterung erkrankt waren, wurde 0,01 g Rohoryzanin (II) am ersten Tage subcutan eingespritzt und vom zweiten Tage an per os gegeben. Sie waren ebenso schnell geheilt wie mit dem alkoholischen Extrakt. Nach 6 bzw. 7 Tagen bekamen sie wieder den Reis allein, trotzdem blieben sie noch mehrere Tage gesund und munter.

Tabelle III.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein	1	289	Gesund
	4	277	
	6	280	
	7	278	
	8	261	
	9	253	
	10	250	
	11	238	
	12	232	
	13	233	Erkrankt
Filtrat vom Phosphorwolframsäureniederschlag	14	226	
	15	227*)	*) 0,03 g Rohoryzanin (I) (nur einmal gegeben)
	16	243	
	17	236	
	18	226	
	19	230	erkrankt
	20	224	0,03 g Rohoryzanin täglich
	21	235	Geheilt
	22	236	
	23	247	
	24	260	
	25	255	
	26	256	
	27	260	
	28	262	Gesund
	29	261	
	30	261	
	31	261	
	32	263	Noch gesund
	33	254	
	34	250	
	35	245	
	36	242	Allmählich schwach

Die Fällung des Oryzanins durch Tannin ist nur eine unvollständige. Bloß aus konzentrierter Lösung ruft Tannin Fällung hervor, die sowohl durch Verdünnung mit Wasser als auch durch Zusatz von verdünnten Säuren und sogar durch einen Überschuß von Tannin wieder gelöst wird. Ferner geht während der Verarbeitung des Tanninniederschlages ein Teil Oryzanin verloren, so daß die Ausbeute nur eine sehr geringfügige ist. Einmal haben wir versucht, aus dem Filtrate des Tanninniederschlages Oryzanin zu gewinnen. Zu diesem Zwecke wurde 1 g Rohoryzanin (I) in 100 ccm Wasser gelöst und mit einer 20%igen Tanninlösung gefällt. Das Filtrat vom Tanninniederschlag wurde mit Barythydrat versetzt, bis die Flüssigkeit stark alkalisch reagierte. Die dicke weißliche Fällung, die eine grünlich-braune Farbe annahm, wurde abgesaugt und mit wenig Wasser gewaschen. Das klare Filtrat wurde nun mit verdünnter Schwefelsäure sorgfältig vom Baryt befreit, abfiltriert

und unter vermindertem Druck abdestilliert. Der dabei zurückgebliebene hellbraune Sirup, der ziemlich sauer reagierte, wurde im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet. In diesem Präparate war kein Oryzanin mehr vorhanden. Einmal haben wir 0,04 g davon einer erkrankten Taube gegeben. Das Tier wurde dadurch nicht geheilt und das Körpergewicht ging allmählich herunter. Erst nach Verabreichung von 0,01 g Rohoryzanin (II) wurde es wieder geheilt. Es scheint also, daß der Hauptanteil des Oryzanins in Rohoryzanin (I) durch Tannin gefällt worden, und was noch im Filtrat geblieben war, durch weitere Verarbeitung verloren gegangen ist.

Zweite Versuchsreihe mit Rohoryzanin (II).

Hier wurde das Oryzanin durch Tannin fraktioniert gefällt. 1 g Rohoryzanin (I) wurde in 50 ccm Wasser gelöst und zuerst mit 10 ccm einer 20%igen Tanninlösung versetzt. Der Niederschlag (a) wurde ab gesaugt. Das Filtrat wurde wieder mit 10 ccm Tanninlösung versetzt. Es entstand noch eine Fällung (b). Das Filtrat von (b) gab keine Fällung mehr.

Die beiden Niederschläge (a) und (b) wurden in oben angegebener Weise mit Baryt zerlegt und daraus das freie Oryzanin dargestellt. Das Präparat aus dem Niederschlag (a) war viel wirksamer als dasjenige aus (b). 0,01 g des ersteren konnte eine erkrankte Taube in wenigen Tagen heilen, während das letztere nur langsam seine Wirkung entfaltete.

Tabelle IV.

1

	Versuchs-tage	Körper-gewicht	Be-merkungen
Reis allein		296	Gesund
		⋮	
		229	
		229	
		223	Erkrankt
0,01 g Roh-oryzanin (II)	1	220	Geheilt
	2	235	
	3	241	
	4	235	
	5	239	
	6	242	Gesund
Reis allein	7	254	
	8	250	
	9	247	
	10	245	
	11	242	Allmählich schwach

2

	Versuchs-tage	Körper-gewicht	Be-merkungen
Reis allein		270	Gesund
		⋮	
		238	
		232	
		230	
		227	
		223	Erkrankt
0,01 g Roh-oryzanin (II)	1	217	
	2	227	Geheilt
	3	232	
	4	234	
	5	239	
	6	242	
	7	244	Gesund
Reis allein	8	244	
	9	245	
	10	245	
	11	245	
	12	240	Noch nicht erkrankt
	⋮	⋮	

Tabelle V.

1

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		282	Gesund
		:	
0,01 g Roh-oryzanin (II)(a)	1	210	Erkrankt
	2	212	
	3	226	Geheilt
	4	218	
	5	217	
	6	220	Gesund
Reis allein	7	220	
	8	219	
	9	226	
	10	227	
	11	227	Gesund
	12	228	
	13	229	
	14	224	
	15	225	
	16	223	Noch nicht erkrankt
	17	223	
	18	226	
	19	220	
	20	217	
	21	208	Allmählich schwach

2

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		270	Gesund
		:	
		240	
		240	
		236	
		234	
		227	
		225	
		223	
		219	Erkrankt
0,01 g Rohoryzanin (II)(b)	1	215	
	2	217	
	3	219	
	4	223	Geheilt
	5	224	Gesund
	6	225	
	7	224	
	8	226	
	9	228	
	10	226	
	11	228	
	12	225	
	13	230	
	14	232	
	15	235	
	16	241	Körpergew. allmählich steigend
	17	239	

Tabelle VI.

1

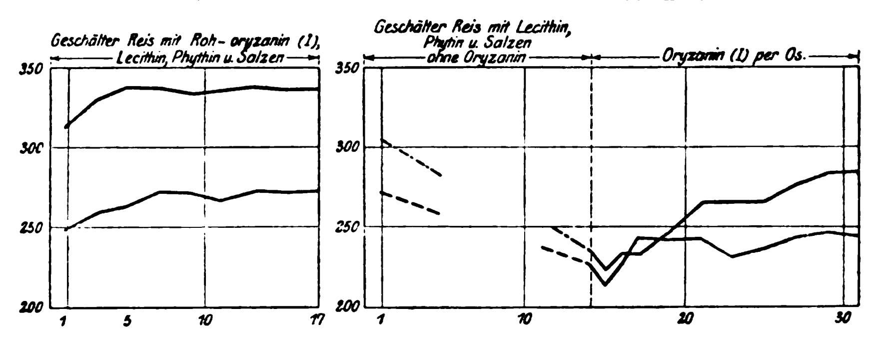
	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		286	Gesund
		:	
		246	Erkrankt
0,01 g Rohoryzanin	1	241	
	3	249	
	5	244	Geheilt
	7	246	
	9	256	
	11	254	
	13	255	
	,15	254	
	17	253	
	19	256	Gesund

2

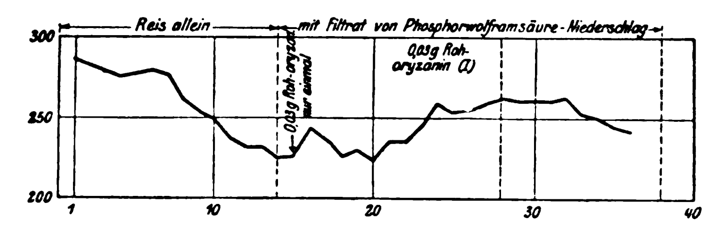
	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		253	Gesund
		:	
		201	Erkrankt
0,01 g Roh-oryzanin	1	201	
	3	203	
	5	202	
	7	202	
	8	203	Nur langsam geheilt
0,02 g Roh-oryzanin	9	209	Gesund
	11	213	
	13	210	
	15	215	Körpergew. steigt

Versuche mit Tauben.

Versuch 2. Versuch 3.

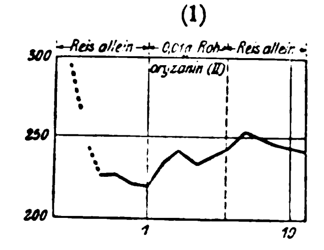


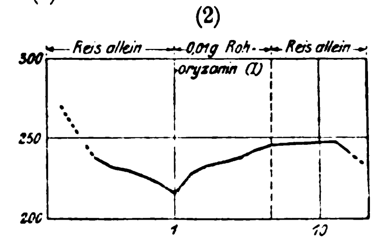
Versuch 4.



Versuch 5 (1).

(1) (2)





Versuch 5 (2).

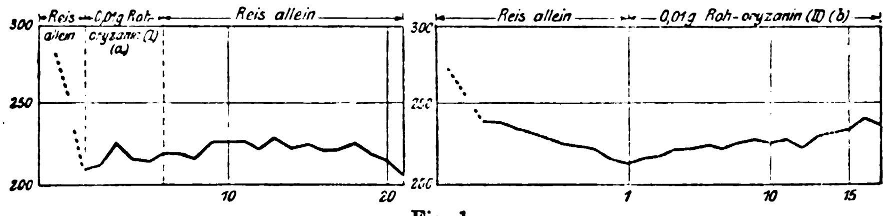
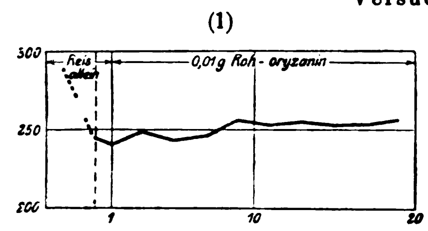


Fig. 1.

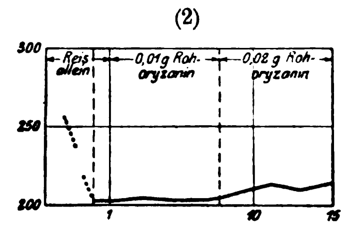
Versuche mit Tauben.

Versuch 5.

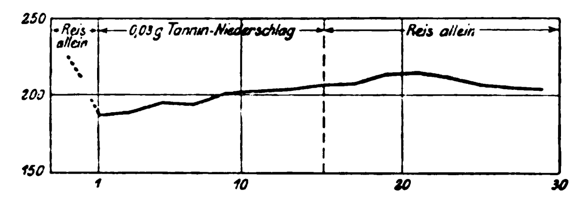
(1)



(2)

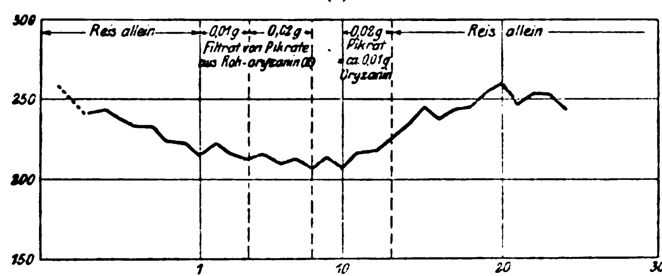


Versuch 6.



Versuch 7. Reines Oryzanin.

(1)



(2)

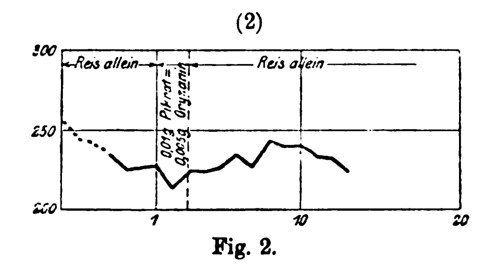


Fig. 2.

Ein ziemlich wirksames Präparat kann man auch unmittelbar aus dem alkoholischen Extrakt durch Fällen mit Tannin erhalten. Zu diesem Zwecke löst man den alkoholischen Extrakt in wenig Wasser und gibt so viel Tanninlösung zu, bis nur noch schwache Trübung entsteht. Der braune Niederschlag wird in gewöhnlicher Weise mit Baryt zerlegt und weiter verarbeitet. Die Wirkung des so bereiteten Präparates war nicht immer konstant. 0,01 g desselben reichte jedoch in vielen Fällen aus, um eine erkrankte Taube zu heilen, obgleich es nur langsam wirkte.

Versuch 6. (Fig. 2.)

Der Tanninniederschlag selbst war auch wirksam. Da der Niederschlag nicht in Wasser löslich war, wurde er in verdünnter Natronlauge gelöst und so der Taube gegeben. 0,03 g desselben genügten schon, um eine erkrankte Taube zu heilen.

Tabelle VII.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		:	Gesund
		:	
		:	Erkrankt
0,03 g Tanninniederschlag	1	189	
	3	190	
	5	196	Geheilt
	7	196	
	9	200	
	11	202	
	13	204	
	15	208	Gesund
Reis allein	17	209	
	19	213	
	21	216	
	23	211	Noch gesund
	25	209	
	27	207	
	29	204	Allmählich schwächer
	31		

Versuch 7. (Fig. 2.)

Reines Oryzanin.

Das reine Oryzanin, das wir aus dem Pikrat in obenerwähnter Weise dargestellt haben, wurde nur in ganz geringer Menge gewonnen und reichte für längere Versuche nicht aus; deshalb haben wir es einmal einer erkrankten Taube nur 4 Tage lang und einer zweiten nur 3 Tage lang gegeben, und zwar der ersteren 0,01 g und der zweiten 0,005 g täglich. Die Wirkung war trotzdem sehr deutlich; sie wurden rasch geheilt und blieben mehr als 10 Tage gesund und munter. Das Körpergewicht stieg auch sehr hoch. Erst nach 10 Tagen ging es wieder langsam zurück.

Versuche mit Tauben.

Versuch 8. Gemischtes Futter: Stärke, Pepton, Phytin, Lecithin u. Salze
(B) mit Oryzanin

Versuch 9. Gemischtes Futter: (Stärke, Gelatine, Phytin, Lecithin und Salze)

(A) ohne Oryzanin

(B) mit Oryzanin

Versuch 10. Spaltungsprodukte des Eiweißes.

Stärke, Lecithin, Phytin, Salze ohne Aminosäuren

0,3 g Aminosäuren

0,5 g Aminosäuren

Fig. 3.

Tabelle VIII.

1

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		. . . . . .	Gesund
		240	
		243	
		239	
		232	
		232	
		224	
		222	Allmählich appetitlos
Filtrat von Pikraten aus Rohoryzanin (II) 0,01 g	1	216	
	2	212	
	3	217	
Filtrat von Pikraten aus Rohoryzanin (II) 0,02 g	4	212	
	5	215	
	6	210	Fast keine Wirkung
	7	212	
	8	209	Erkrankt
	9	213	Schwach
0,02 g Pikrat = ca. 0,01 g Oryzanin	10	207	
	11	217	Geheilt und munter
	12	218	
	13	225	Gesund
Reis allein	14	233	
	15	245	
	16	238	
	17	343	
	18	245	Gesund
	19	253	
	20	—	
	21	—	
	22	—	
	23	—	
	24	—	Noch gesund

2

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		. . . .	Gesund
		235	
		225	
		226	Erkrankt
0,01 g Pikrat = 0,005 g Oryzanin	1	228	
	2	215	
	3	225	Geheilt
Reis allein	4	225	Gesund
	5	227	
	6	235	
	7	228	
	8	243	
	9	240	
	10	240	
	11	234	Gesund
	12	232	
	13	225	Allmählich Appetit verloren

Versuch 8. (Fig. 3.)

Gemischtes Futter.

4 Tauben wurden anstatt mit Reis mit einem künstlich gemischten Futter gefüttert. Die Mengenverhältnisse waren wie folgt:

Stärke	500,0 g	$CaCO_3$	1,5 g
Pepton	25,0 g	$CaCl_2$	0,5 g
Lecithin	2,5 g	K_2CO_3	0,5 g
Phytin	2,5 g	Na_2CO_3	1,0 g

Die Stärke wurde vorher verkleistert, mit den übrigen Stoffen vermischt, bei niedriger Temperatur getrocknet und in kleine Stückchen

zerschnitten. Die ersten zwei Tiere (1 und 2) bekamen kein Oryzanin, während den anderen zwei (3 und 4) täglich 0,03 g Rohoryzanin per os gegeben wurden. Der Unterschied zwischen beiden war auffallend; 1 und 2, die kein Oryzanin bekamen, gingen in 10 bzw. 11 Tagen unter starker Abmagerung zugrunde, während 3 und 4, die Oryzanin bekommen hatten, nicht nur gesund blieben, sondern in 17 Tagen an Körpergewicht um 74 bzw. 42 g zunahmen.

Tabelle IX.

A. Ohne Oryzanin.

	Versuchstage	Körpergewicht u. Nr. d. Versuchstieres 1	2	Bemerkungen
Reis allein		⋮	⋮	
Stärke, Pepton, Lecithin, Salze	1	219	207	Gesund
	2	213	209	
	3	226	207	
	4	208	196	
	5	208	192	
	6	200	191	
	7	201	190	
	8	188	180	Erkrankt
	9	180	176	
	10	195	190	
	11	starb	170	
	12		starb	

B. Mit Oryzanin.

	Versuchstage	Körpergewicht u. Nr. d. Versuchstieres 1	2	Bemerkungen
Reis allein		⋮	⋮	
Stärke, Pepton, Lecithin, Salze mit Oryzanin	1	250	243	Gesund
	2	269	232	
	3	280	243	
	4	279	255	
	5	274	255	
	6	287	264	
	7	285	282	
	8	285	289	
	9	293	288	
	10	279	290	
	11	286	291	
	12	284	299	
	13	290	300	
	14	290	303	
	15	296	307	
	16	300	317	Gesund
	17	292	317	Körpergewicht steigt
	⋮	⋮	⋮	

Versuch 9. (Fig. 3.)

Gemischtes Futter.

In diesem Versuche wurde das Pepton durch Gelatine ersetzt. Das Futtergemisch hatte folgende Zusammensetzung:

A. Ohne Oryzanin.

Stärke	500,0 g
Gelatine	25,0 g
Lecithin	2,5 g
Phytin	2,5 g
$CaCO_3$	1,5 g
$CaCl_2$	0,5 g
Na_2CO_3	1,0 g
K_2CO_3	0,5 g

B. Mit Oryzanin.

A + 10 g alkoholischer Extrakt der Kleie.

Hier beobachtete man auch einen auffallend großen Unterschied zwischen A und B. 2 Tauben, die mit A gefüttert wurden, hatten von Anfang an keine Eßlust. Das Körpergewicht hatte so rasch abgenommen, daß sie nach 12 Tagen schon stark abgemagert und erkrankt waren. Die zwei anderen Tauben, die mit B gefüttert wurden, konnten auch nicht das Gleichgewicht behalten, und das Körpergewicht nahm auch allmählich ab. Trotzdem waren sie nach 28 Tagen noch gesund. Der durchschnittliche Verlust an Körpergewicht betrug bei A 6,9 bzw. 5,2 g und bei B 1,4 bzw. 2,0 g. Also bei A war der Verlust 3 bis 4mal größer als bei B. Dieser Unterschied ist schlechthin dem Oryzanin zuzuschreiben.

Die allgemeine Annahme, daß Gelatine nicht das Eiweiß, wie Casein, Pepton usw., ersetzen kann, ist hier wiederum bestätigt.

Tabelle X.

A. Ohne Oryzanin.

	Versuchstage	Körpergewicht u. Nummer des Tieres		Bemerkungen
		1	2	
Stärke, Gelatine usw.	1	296	310	Gesund
	3	285	287	
	5	270	270	
	7	257	253	
	9	249	244	
	11	236	228	
	13	226	221	Erkrankt
	15	218	207	

Täglicher Verlust an Gewicht bei A:
(1) 6,9 g,
(2) 5,2 g.

B. Mit Oryzanin.

	Versuchstage	Körpergewicht u. Nummer des Tieres		Bemerkungen
		1	2	
Stärke, Gelatine usw. mit Oryzanin	1	253	262	Gesund
	3	231	214	
	5	247	225	
	7	239	217	
	9	235	216	
	11	232	214	
	13	235	212	
	15	228	210	
	17	225	204	
	19	226	208	
	21	221	206	
	23	219	202	
	25	220	202	
	27	213	205	Körpergewicht geht allmählich herunter
	28	215	205	

Täglicher Verlust bei B:
(1) 1,4 g,
(2) 2,0 g.

Versuch 10. (Fig. 3.)

Spaltungsprodukte des Eiweiß.

Wie oben erwähnt, verlieren die Tauben ihr Körpergewicht nur langsam, wenn sie mit eiweißfreiem, aber oryzaninhaltigem Futter genährt werden. Darum haben wir versucht, ob das Aminosäurengemisch, das durch Spaltung des Eiweißkörpers rein dargestellt wurde, den Verlust an Körpergewicht zu verhindern vermag.

Tabelle XI.

	Versuchstage	Körpergewicht u. Nr. des Tieres 1	2	Bemerkungen
Stärke, Lecithin, Phytin, Salze ohne Aminosäuren	1	254	276	Gesund
	3	251	277	
	5	248	272	
	7	247	265	
	9	241	259	
	11	232	256	
	13	231	251	
	15	229	250	
	17	228	246	
	19	220	245	
	21	217	240	
	23	214	239	
	25	211	—	
	27	213	230	
	29	207	224	
	31	205	224	Allmählich schwach
	33	200	211	
0,3 g Aminosäuren dazu	35	201	210	
	37	197	214	
	39	199	213	Etwas erholt
	41	199	205	
	43	194	203	
	45	197	201	
	47	199	203	
	49	204	201	
0,5 g Aminosäuren dazu	51	217	200	
	53	211	199	
	55	218	202	
	57	223	195	
	59	243	199	
	61	starb	198	(1) starb wegen mechanischer Verstopfung durch Anhäufung d. Exkremente. Die angebliche Zunahme d. Gewichts n. 50 Tagen ist wohl d. Anhäufung des Exkrements zuzuschreiben
	63		200	
	65		193	
	67		192	
	69		190	
	71		187	
	73		189	
	75		186	
	77		181	
	79		180	Allmählich schwach
	81		187	
	83		182	
	85		175	
	87		174	
	89		174	
	95		starb	

Das Futtergemisch hatte folgende Zusammensetzung:

Stärke	1000 g	Na_2CO_3	2 g
Lecithin	5 g	$CaCl_2$	1 g
Phytin	5 g	Alkoholische Extrakte d. Kleie	20 g
$CaCO_3$	3 g		

Die Stärke wurde vorher verkleistert, mit den übrigen Stoffen vermischt, getrocknet, zu kleinen Stückchen geschnitten und 2 Tauben gegeben.

Das Aminosäuregemisch bestand aus reinem Glykokoll, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Histidin-Hydrochlorat, Asparaginsäure, Tyrosin, Cystin und Glutaminsäure-Hydrochlorat. Sie wurden ungefähr in demselben Mengenverhältnisse gemischt, wie sie in gewöhnlichen Pflanzeneiweißmolekülen vorhanden sind. Leider haben wir kein reines Tryptophan und Prolin zur Hand gehabt, und so ist dieser Versuch nicht als endgültig anzusehen. Wir beabsichtigen, später nochmals diesen Versuch zu wiederholen.

2 Tauben wurden erst 33 Tage lang mit dem oben angegebenen Futtergemisch genährt. Sie haben dabei allmählich an Körpergewicht verloren und waren beinahe erkrankt. Hierauf wurden vom 34. bis 49. Tage täglich 0,3 g Aminosäuregemisch verabreicht; sie konnten das Gleichgewicht nicht erhalten, obgleich die Abnahme des Gewichts viel langsamer geworden ist. Vom 50. bis 80. Tage war die Aminosäuremenge auf 0,5 g vermehrt, die Abnahme wurde dabei noch langsamer, und 14 Tage lang haben sie sogar beinahe das Gleichgewicht erhalten. Später nahm es allmählich ab, und nach 95 Tagen ging das Tier schließlich zugrunde.

Obgleich die Aminosäuren in diesem Versuche nicht imstande waren, das Eiweiß zu ersetzen oder längere Zeit das Gleichgewicht zu erhalten, haben die Tiere trotzdem viel länger als ohne Aminosäuren gelebt; so muß man annehmen, daß sie wenigstens den Eiweißverbrauch im Tierkörper vermindert oder einen Teil des Eiweiß ersetzt haben.

B. Hühner.

Tabelle XII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	481	537
17	206 (starb)	—
20	—	323 (starb)

Versuch 1.

Geschälter Reis.

1. 2 junge Hühner (2 Monate nach dem Ausbrüten) wurden mit geschältem Reis gefüttert. Nach 10 bis 13 Tagen waren die beiden schon stark abgemagert. Am 15. Tage haben sie je 1 g Pepton mit kleiner Menge Phytin, Ferratin und Salzgemisch ($CaCO_3$, Na_2CO_3, KH_2PO_4, K_2CO_3, NaCl) bekommen. Sie wurden aber dadurch nicht geheilt und gingen bald zugrunde.

2. Derselbe Versuch wurde nochmals wiederholt.

Tabelle XIII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	428	315
15	307 (starb)	—
18	—	260 (starb)

Versuch 2.

Geschälter Reis mit Phytin.

1. 2 junge Hühner (70 Tage alt) wurden mit geschältem Reis gefüttert; man gab täglich 0,5 g Phytin dazu. Sie waren nach 18 Tagen stark abgemagert und erkrankten schließlich.

Tabelle XIV.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	482	418
18	356	307

2. 2 andere Hühner (70 Tage alt) bekamen eine kleine Menge Salze nebst Phytin. Sie waren ebenso schnell erkrankt wie mit Reis allein.

Versuch 3.

Geschälter Reis mit Lecithin.

2 jungen Hühnern wurden täglich 0,5 g Lecithin (Kahlbaum) verabreicht. Die Abnahme des Körpergewichts war ebenso schnell wie mit Reis allein. Am 13. Tage waren sie schon schwer erkrankt. Hierauf wurden 5 g Kleie gegeben. Am nächsten Tage waren sie beinahe geheilt und bekamen wieder Eßlust. Nach 12 Tagen waren sie vollständig gesund und hatten an Gewicht zugenommen.

Tabelle XV.

	Versuchs-tage	Körpergewicht u. Nr. des Tieres		Bemerkungen
		1	2	
Reis + Lecithin	1	413	497	Gesund
	3	390	492	
	5	372	462	
	7	355	443	
	9	341	408	
	11	336	388	
	13	306	375	Erkrankt
5 g Kleie dazu	15	285	390	
	17	325	404	
	19	319	412	Geheilt
	21	363	406	
	23	381	445	
	24	365	431	Gesund

Versuch 4.

Geschälter Reis mit alkoholischem Extrakt der Kleie und Salzen.

Zusammensetzung des Futtermittels:

Geschälter Reis	1000 g	Na_2CO_3	2 g
Alkoholischer Extrakt	20 g	K_2CO_3	1 g
$Ca_2H_2(PO_4)_2$	5 g	NaCl	2 g
$CaCO_3$	3 g		

2 junge Hühner (ca. 25 Tage nach dem Ausbrüten) wurden mit obenerwähntem Futtermittel gefüttert. Anfangsgewicht war 156 bzw. 144 g. Sie blieben 70 Tage lang gesund und haben allmählich an Gewicht zugenommen, bis sie ungefähr das Doppelte ihres Gewichts erreicht hatten. Nach 80 Tagen waren sie jedoch schwach geworden, so daß wir den Versuch unterbrechen mußten.

Wir haben noch einige Versuche ausgeführt, um zu sehen, ob die jungen Hühner ausschließlich mit geschältem Reis und alkoholischem Extrakt der Kleie längere Zeit am Leben bleiben können. In allen bisher untersuchten Fällen blieben sie 60 bis 70 Tage lang gesund und munter. Nachher ging der Appetit allmählich zurück. Sie starben nicht so schnell wie mit Reis allein, sondern blieben längere Zeit kümmerlich. Das Körpergewicht nimmt nach und nach ab. Da dem Reis fast alle unentbehrlichen Mineralstoffe fehlen, so muß man genau die Mengenverhältnisse und Verbindungsformen der einzelnen Mineralstoffe kennen lernen, um die jungen Hühner längere Zeit am Leben zu erhalten.

Wir wollen hier einige Beobachtungen, die Herr Direktor Kozai[1]) und Dr. Ando in Nishigahara in dieser Richtung gemacht haben, erwähnen.

[1]) Special report of the Agricultural Experiment station Nishigahara, Tokio.

Sie haben eine Anzahl ausgewachsener Hühner in einem beschränkten Raume mit verschiedenen Futtermitteln gefüttert und gefunden, daß ungeschälter Reis oder geschälter Reis mit Kleie oder Weizenkleie nie die Erkrankung oder Abmagerung des Tieres hervorrief. Alle Tiere, die mit geschältem Reis gefüttert wurden, gingen ohne Ausnahme zugrunde. Bloß die Zeit bis zur Erkrankung war bei ihnen bedeutend länger als bei unserem Experimente, weil sie anfangs den käuflichen geschälten Reis ohne Waschen den Tieren gegeben haben, wobei natürlich kleine Mengen Kleie immer noch darauf haften blieben. Mit gewaschenem Reis erkrankten die Tiere viel rascher.

Die beiden Autoren haben auch verschiedene Reissorten aus verschiedenen Gegenden verglichen; sie verhielten sich manchmal sehr verschieden gegen Erkrankung, vorausgesetzt, daß der geschälte Reis nicht gewaschen war. Wenn er aber sorgfältig gewaschen und von Spuren anhaftender Kleie befreit war, so haben sie ohne eine einzige Ausnahme Erkrankung hervorgerufen.

Die alten ausgewachsenen Hühner waren viel widerstandsfähiger als die jungen wachsenden.

Ferner muß man bemerken, daß die Hühner, wenn sie in einem etwas geräumigen Raume gefüttert werden, nicht selten Fliegen, Mücken u. a. herunterschlucken, oder sie finden etwas, was sie nicht fressen sollten, so werden sie mehr oder weniger länger vor der Erkrankung verschont.

C. Mäuse.

Versuch 1. (Fig. 4.)

Geschälter Reis.

a) 4 Mäuse wurden mit geschältem Reis und Brunnenwasser gefüttert. Die ersten 4 bis 5 Tage waren sie gesund und fraßen den Reis sehr gerne. Der Appetit ging aber nach und nach zurück, und binnen 11 bis 15 Tagen gingen sie alle zugrunde.

Tabelle XVI.

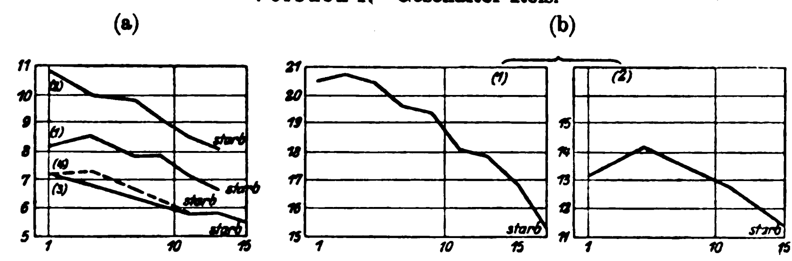
Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	1	2	3	4
1	8,1	10,9	7,2	7,2
4	8,5	10,0	6,8	7,4
7	7,9	9,9	6,4	6,6
9	7,9	9,2	6,2	6,4
11	7,2	8,5	5,7	5,7
13	6,7	8,1	5,7	starb
15	starb	starb	starb	—

b) Derselbe Versuch wurde nochmals mit zwei größeren Mäusen wiederholt. Die beiden Tiere starben binnen 15 bis 17 Tagen unter Abmagerung.

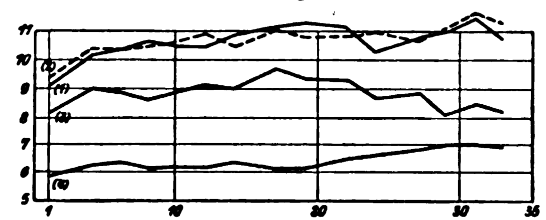
Versuche mit Mäusen.

Versuch 1. Geschälter Reis.

(a) (b)

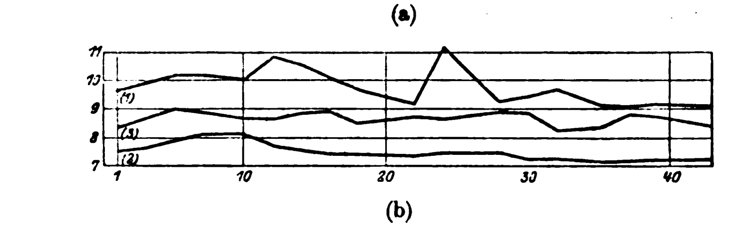


Versuch 2. Ungeschälter Reis.

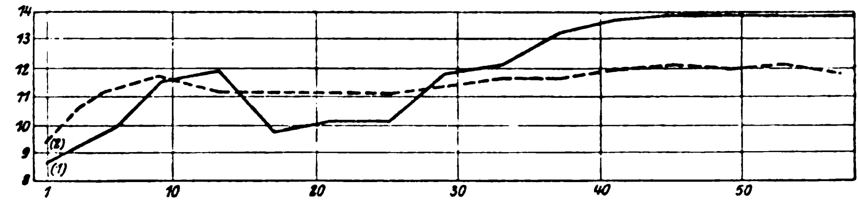


Versuch 3. Geschälter Reis mit alkoholischem Extrakt der Kleie.

(a)



(b)



(c) mit Phytin, Lecithin und Salzen nebst alkoholischem Extrakt.

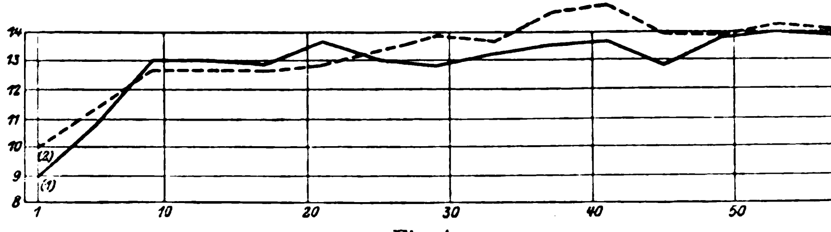


Fig. 4.

Tabelle XVII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	20,5	13,1
3	20,7	13,8
5	20,5	14,2
7	19,6	13,8
9	19,4	13,3
11	18,2	12,8
13	17,8	12,1
15	16,9	11,4
17	15,0	starb
	starb	

Versuch 2. (Fig. 4.)

Ungeschälter Reis.

4 Mäuse wurden mit ungeschältem Reis gefüttert; sie blieben alle gesund. Jedes Tier fraß täglich 2 bis 2,5 g Reis und nahm mehr oder weniger an Körpergewicht zu. Nach 33 Tagen wurde der Versuch unterbrochen.

Tabelle XVIII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	1	2	3	4
1	9,1	9,4	8,1	5,9
4	10,1	10,3	9,0	6,2
6	10,4	10,4	8,9	6,4
8	10,6	10,5	8,7	6,2
10	10,5	10,6	8,9	6,2
12	10,5	10,8	9,2	6,2
14	10,8	10,5	9,0	6,4
17	11,2	11,1	9,7	6,2
19	11,3	10,8	9,4	6,2
22	11,1	10,8	9,3	6,5
24	10,4	11,0	8,7	6,6
27	10,9	10,8	8,9	6,8
29	11,0	11,1	8,1	7,0
31	11,5	11,6	8,5	7,0
33	10,8	11,4	8,2	6,9

Versuch 3. (Fig. 4.)

Geschälter Reis mit alkoholischem Extrakt der Kleie.

a) 500 g geschälter Reis wurden mit einer wässerigen Lösung von 7 g alkoholischem Extrakt (= aus 70 g Kleie) vermischt, getrocknet und 3 Mäusen gegeben. Sie blieben gesund und normal. Nach 44 Tagen wurde der Versuch unterbrochen. Das Körpergewicht zeigte keine großen Schwankungen.

Tabelle XIX.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		
	1	2	3
1	9,6	7,5	8,4
3	9,8	7,6	8,6
5	10,2	7,9	9,0
7	10,2	8,2	8,9
10	10,0	8,2	8,6
12	10,9	7,7	8,6
14	10,6	7,5	8,8
16	10,1	7,4	8,9
18	9,6	7,4	8,5
22	9,2	7,3	8,7
24	11,2 (?)	7,4	8,9
28	9,3	7,4	8,9
30	9,4	7,2	8,8
32	9,6	7,2	8,3
35	9,2	7,0	8,4
37	9,1	7,1	8,8
44	9,2	7,2	8,7

b) Derselbe Versuch wurde nochmals mit 2 jungen Mäusen wiederholt. 80 Tage lang waren sie vollkommen gesund und das Körpergewicht nahm bedeutend zu. Nach 80 Tagen wurde der Versuch unterbrochen.

Tabelle XX.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2		1	2		1	2
1	8,7	9,4	33	12,1	11,6	65	13,5	12,0
5	9,6	11,1	37	13,2	11,6	69	14,5	12,7
9	11,5	11,7	41	13,6	12,0	71	14,5	12,3
13	11,8	11,3	45	13,8	12,1	73	14,3	11,9
17	9,8	11,2	49	13,8	12,0	75	14,5	12,7
21	10,3	11,2	53	13,8	12,1	76	14,0	12,3
25	10,3	11,1	57	13,8	11,9	78	13,5	12,0
29	11,6	11,3	61	13,7	12,0	80	13,0	11,5

c) In diesem Versuche wurden 2 Mäuse mit geschältem Reis und alkoholischem Extrakt nebst kleinen Mengen Salzen gefüttert. Die Mengenverhältnisse waren wie folgt:

100 g geschälter Reis,
1,5 g alkoholischer Extrakt,
0,1 g K_2CO_3,
0,2 g Na_2CO_3,
0,1 g $CaCl_2$,
0,3 g $CaCO_3$.

Die Versuchstiere blieben längere Zeit vollständig gesund. Das eine ist leider nach 57 Tagen weggelaufen. Das andere blieb 76 Tage lang ganz normal, bis der Versuch unterbrochen wurde.

Tabelle XXI.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2		1	2		1	2
1	9,0	10,0	29	12,9	13,8	57	13,8	13,9
5	10,7	11,3	33	13,2	13,6	61	14,0	fortgelaufen.
9	13,0	12,9	37	13,5	14,8	65	14,0	
13	13,0	12,8	41	13,7	15,0	67	14,1	
17	13,7	12,6	45	12,9	13,9	71	13,0	
21	13,6	12,9	49	13,8	13,8	74	13,3	
25	13,0	13,2	53	14,0	14,1	76	13,1	

Versuch 4. (Fig. 5).

Geschälter Reis mit Rohoryzanin (I).

In diesem Versuche wurden 2 Mäuse (A) mit geschältem Reis und Rohroryzanin (I) gefüttert und zwei andere (B) wurden noch dazu mit Lecithin, Phytin und Salzen versehen. Alle blieben 35 Tage völlig gesund, bis der Versuch unterbrochen wurde. Man konnte jedoch zwischen A und B einen ziemlich großen Unterschied merken, d. h. der Einfluß von Lecithin, Phytin und Salzen war deutlich erkennbar. Diejenigen, die keine Salze nebst Lecithin und Phytin bekommen haben (A), zeigten allmähliche Abnahme des Körpergewichts, während diejenigen, die sie bekommen haben (B), etwas an Körpergewicht zugenommen haben. Da der geschälte Reis sehr arm an Mineralstoffen ist und das Rohoryzanin vollkommen frei davon, so ist es wohl begreiflich, daß der Mangel an Mineralstoffen in diesem Falle (A) fühlbar war.

Die Futtergemische in diesem Versuche hatten folgende Zusammensetzung:

A. 100 g Reis und 0,2 g Rohoryzanin.

B. 100 g Reis, 0,2 g Rohoryzanin, 0,4 g Lecithin (Kahlbaum), 0,5 g Phytin, 0,3 g $CaCO_3$, 0,1 g $CaCl_2$, 0,2 g Na_2CO_3, 0,1 g K_2CO_3.

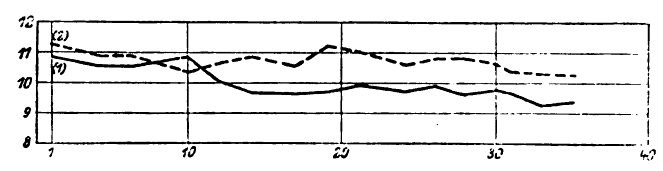
Aus oben angegebenen Beobachtungen ist also festgestellt worden, daß die Mäuse durch ausschließliche Reisfütterung ohne Ausnahme binnen 10 bis 20 Tagen unter starker Abmagerung zugrunde gehen, während diejenigen, die entweder mit ungeschältem Reis oder mit geschältem Reis nebst Kleie oder alkoholischem Extrakt gefüttert werden, längere Zeit gesund und normal leben können.

Ganz dasselbe Resultat konnte man auch mit Rohoryzanin erzielen. Nur starben einige Tiere während der Versuche aus unbekannter Ursache. Dies kann aber selbst bei gewöhnlicher Fütterung oft geschehen.

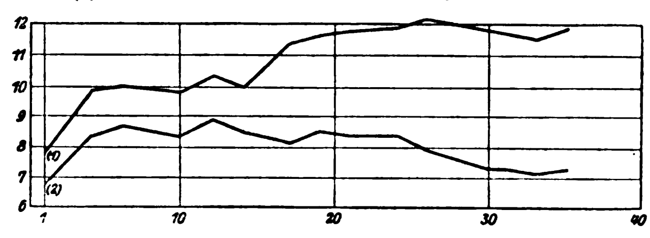
Versuche mit Mäusen.

Versuch 4. Geschälter Reis mit Rohoryzanin (I)

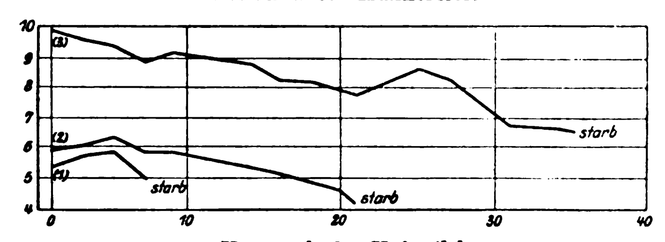
(a) ohne Salze.



(b) Reis, Rohoryzanin, Lecithin, Phytin und Salze.

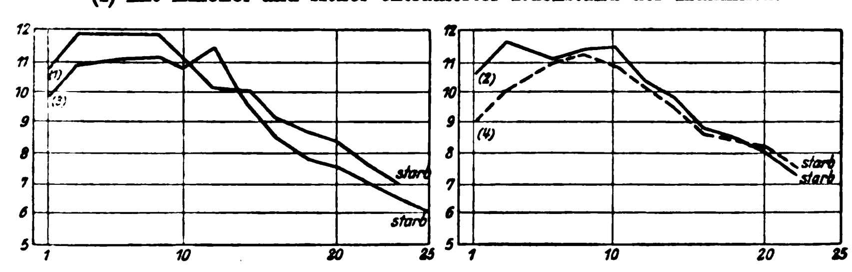


Versuch 5. Hühnereier.



Versuch 6. Kuhmilch

(I) mit Alkohol und Äther extrahierter Rückstand der Kuhmilch.



(II) getrocknete Milch.

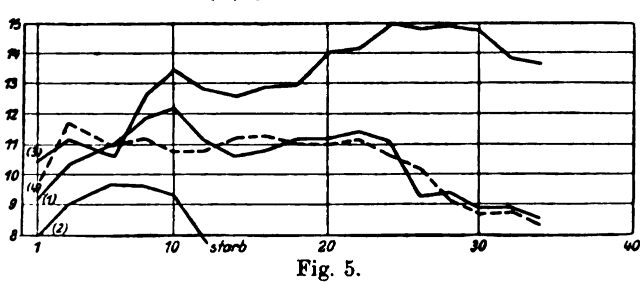


Fig. 5.

Tabelle XXII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres				Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	A		B			A		B	
	1	2	1	2		1	2	1	2
1	10,9	11,3	7,8	6,8	21	9,9	11,0	11,7	8,3
4	10,5	10,8	9,9	8,3	24	9,7	10,5	11,9	8,3
6	10,5	10,8	10,0	8,6	26	9,8	10,7	12,1	7,9
10	10,8	10,3	9,8	8,3	28	9,6	10,8	12,0	7,6
12	10,0	10,6	10,4	8,9	30	9,7	10,6	11,9	7,3
14	9,6	10,8	10,0	8,5	31	9,6	10,4	11,8	7,3
17	9,6	10,5	11,4	8,1	33	9,3	10,3	11,5	7,1
19	9,7	11,2	11,6	8,5	35	9,4	10,3	11,9	7,3

Die Zugabe von Salzen mit oder ohne Phytin, Lecithin und Phosphat scheint im allgemeinen einen günstigen Einfluß gehabt zu haben. Besonders günstig war das Calciumphosphat. Da aber, wie gesagt, die Individualität und das Alter der Tiere eine große Rolle dabei spielen, so kann man noch keinen bestimmten Schluß ziehen. Wir wollen später uns nochmals mit dieser Frage beschäftigen.

Versuch 5. (Fig. 5.)

Hühnereier.

500 g geschälter Reis wurden mit 250 g frischen Eiern (Schale ausgenommen) vermischt, bei niederer Temperatur getrocknet und 3 Mäusen gegeben. Alle 3 gingen zugrunde, und zwar das erste nach 9 Tagen, das zweite nach 23 Tagen und das dritte nach 35 Tagen. Das kleinste lebte am kürzesten, wohl wegen seiner Empfindlichkeit. Es scheint also, daß Hühnereier fast frei von Oryzanin sind.

Tabelle XXIII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		
	1	2	3		1	2	3
1	5,4	5,9	9,8	21	—	4,4	7,6
3	5,7	6,0	9,6	23	—	starb	8,1
5	5,8	6,3	9,4	25	—		8,6
7	5,0	5,9	8,9	27	—		8,3
9	starb	5,8	9,1	29	—		7,5
14		5,3	8,8	31	—		6,7
16		5,1	8,3	33	—		6,6
18		4,8	8,2	35	—		6,5
19		4,7	—	—	—		starb

Versuch 6. (Fig. 5).

Geschälter Reis mit Kuhmilch.

Es wurden zwei Versuche mit Kuhmich ausgeführt.

I. Die Milch wurde bei niedriger Temperatur bis zum Trocknen eingedampft und mit Äther und dann mit heißem Alkohol dreimal extrahiert. 45 g des auf diese Weise gewonnenen Rückstandes wurden mit 90 g geschältem Reis vermischt und 4 Mäusen gegeben.

II. 109 g (= 800 ccm frischer Milch) der bei niederer Temperatur getrockneten Milch wurden mit 218 g Reis vermischt und 4 Mäusen gegeben.

Im Versuche I gingen alle vier fast in derselben Zeit zugrunde, obgleich sie etwas länger als bei ausschließlicher Reisfütterung lebten.

Im Versuche II starb eine in kurzer Zeit aus unbekannter Ursache. Die übrigen drei blieben 34 Tage vollkommen gesund und munter; die eine hat sogar bedeutend an Gewicht zugenommen, während zwei andere allmählich abgenommen haben.

Man sieht also, daß die Milch sich gegen Mäuse etwas anders verhielt als gegen Tauben. Auf Tauben hat die Milch nämlich keine günstige Wirkung gezeigt. Jedenfalls enthält die Milch irgendeinen Stoff[1]), der für Mäuse, nicht aber für Tauben günstig wirkt.

Tabelle XXIV.

I.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	1	2	3	4
1	10,8	10,6	9,9	9,0
3	11,9	11,6	10,8	10,0
6	11,8	11,2	11,2	11,1
8	11,8	11,4	11,4	11,4
10	11,1	11,5	11,0	11,0
12	10,1	10,4	11,4	10,4
14	10,0	9,9	9,6	9,5
16	9,2	8,9	8,5	9,0
18	8,7	8,5	7,9	8,5
20	8,4	8,0	7,5	8,1
22	7,7	7,3	7,0	7,6
24	7,0	starb	6,5	7,0
26	starb		6,0	starb
			starb	

II.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	1	2	3	4
1	9,2	7,5	10,4	10,1
3	10,3	8,9	11,2	11,6
6	11,0	9,7	10,7	11,0
8	11,9	9,6	12,6	11,2
10	12,1	8,9	13,5	10,8
12	11,1	7,4	12,9	10,7
14	10,6	starb	12,6	11,3
16	10,7		12,9	11,4
18	11,2		13,0	11,1
20	11,2		14,0	11,1
22	11,4		14,1	11,2
24	11,1		15,0	10,7
26	9,2		14,7	10,1
28	9,4		14,9	9,1
30	8,9		14,7	8,7
32	8,9		13,8	8,8
34	8,5		13,7	8,4

[1]) Man vergleiche die Arbeit von C. B. Osborne: The Roll of different Proteins in Nutrition and Growth: Science N. S. 34. Nr. 882, S. 722—732 (24. Nov. 1911).

Versuch 7. (Fig. 6.)

Geschälter Reis mit Margarine.

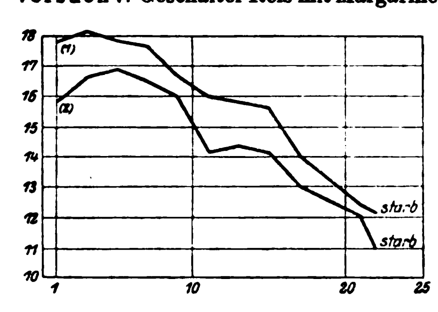
100 g Reis wurden mit 10 g Margarine vermischt und 2 Mäusen gegeben. Sie blieben nur etwas länger als bei ausschließlicher Reisfütterung am Leben. Nach 22 bis 24 Tagen starben sie beide unter Abmagerung.

Tabelle XXV.

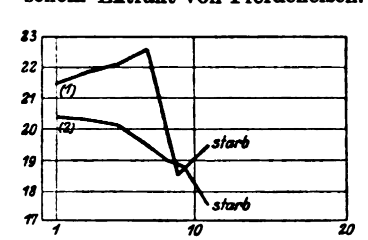
Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	17,9	15,9
3	18,2	16,6
5	17,9	16,8
7	17,6	16,5
9	16,7	16,0
11	16,1	14,2
13	15,9	14,4
15	15,7	14,1
17	14,0	13,0
19	—	—
21	12,3	12,0
22	12,2	11,6
23	starb	11,0
		starb

Versuche mit Mäusen.

Versuch 7. Geschälter Reis mit Margarine.



Versuch 8. Geschälter Reis mit alkoholischem Extrakt von Pferdefleisch.

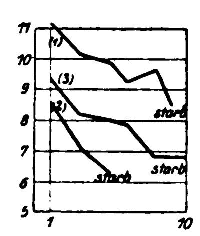


Versuch 9. Stärke, Casein, Lecithin und Salze

(A) ohne Oryzanin

(B) mit Oryzanin





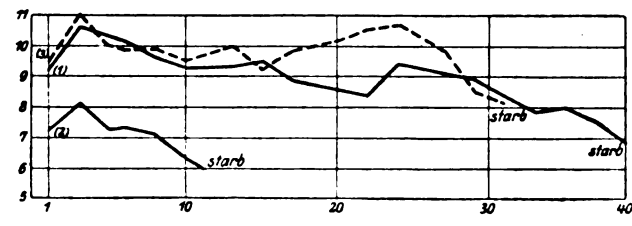


Fig. 6.

Versuch 8. (Fig. 6).

Geschälter Reis mit alkoholischem Extrakt von Pferdefleisch.

500 g frisches Pferdefleisch wurden mit heißem 90 %igem Alkohol wiederholt extrahiert. Der Extrakt wurde stark eingedampft und nochmals mit 90 %igem Alkohol versetzt, von ungelöstem Rückstand abfiltriert und weiter eingedampft. Der Sirup wurde dann mit Äther geschüttelt, um Fette und andere Verunreinigungen zu entfernen, und weiter eingeengt. Der auf diese Weise erhaltene alkoholische Extrakt wurde mit 250 g geschältem Reis vermischt und 2 Mäusen gegeben. Sie starben nach 11 Tagen unter Abmagerung[1]).

Tabelle XXVI.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2
1	21,5	20,4
3	21,9	20,3
5	22,1	20,2
7	22,7	19,5
9	18,5	18,7
11	19,5	17,5
	starb	starb

Versuch 9. (Fig. 6.)

Hier wurde ein Futtergemisch mit möglichst reiner Stärke, Casein, Lecithin und Salzen, mit oder ohne Oryzanin zubereitet. Die Zusammensetzung desselben war wie folgt:

A. Ohne Oryzanin.

100 g Stärke, 10 g Casein, 0,5 g Lecithin, 0,4 g $CaCO_3$, 0,1 g $CaCl_2$, 0,2 g Na_2CO_3, 0,1 g K_2CO_3, 0,1 g NaCl, 0,1 g $MgSO_4$.

B. Mit Oryzanin.

Zu A wurde 0,2 g Rohoryzanin (I) zugegeben. Zur Bereitung des Futtergemisches wurde die Stärke vorher verkleistert und mit anderen Stoffen vermischt, bei niederer Temperatur getrocknet und in kleine Stückchen geschnitten.

Sämtliche Tiere in A und B starben binnen 39 Tagen. Der Unterschied war jedoch, daß die Tiere, die Oryzanin bekommen hatten (B), dreimal länger lebten als die (A), die kein Oryzanin bekamen, was bloß der Einwirkung des Oryzanins zuzuschreiben ist.

---

[1]) Herr Dr. M. Watanabe im hiesigen Laboratorium hat später diesen Versuch wiederholt und viel bessere Resultate erzielt. Er konnte nämlich 2 Mäuse 80 Tage lang am Leben erhalten. So scheint, daß der alkoholische Extrakt des Pferdefleisches auch für Mäuse wirksam ist.

Dieser Versuch soll nochmals wiederholt werden. Die Stärke ohne Verkleisterung hätte vielleicht ein besseres Resultat erzielt. Auch die anorganischen Salze hatten keine richtige Zusammensetzung[1]).

Tabelle XXVII.

A. Ohne Oryzanin.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		
	1	2	3
1	11,1	8,7	9,3
3	10,3	7,1	8,2
5	9,9	6,4	8,0
6	9,3	starb	7,8
8	9,6		6,9
9	8,5		—
10	starb		6,9
			starb

B. Mit Oryzanin.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		
	1	2	3
1	9,1	7,3	9,5
3	10,6	8,1	11,0
5	10,3	7,4	10,1
6	10,2	7,4	9,9
8	9,6	7,1	9,8
10	9,4	6,3	9,5
11	—	6,0	—
12	—	starb	—
13	9,4		10,0
15	9,5		9,2
17	8,8		9,9
20	8,5		10,1
22	8,4		10,5
24	9,4		10,7
27	9,1		9,8
29	8,9		8,6
31	8,4		8,1
33	7,9		starb
35	8,0		
37	7,6		
39	6,8		
	starb		

[1]) Vor kurzem hat Herr Dr. M. Watanabe im hiesigen Laboratorium ein Salzgemisch nach Röhmann hergestellt, und zwar in folgendem Mengenverhältnis:

10 g phosphors. Kalk, 40 g saures phosphors. Kali, 20 g Natriumchlorid,
15 g Natriumcitrat, 8 g Magnesiumcitrat, 8 g Calciumlactat.

Er hat 20 g dieses Salzgemisches mit 1000 g geschältem Reis gemischt und 2 Mäusen gegeben. Die Tiere lebten 28 Tage, während 2 Kontrolltiere ohne Salze in 14 bzw. 15 Tagen zugrunde gingen.

Auch bei Tauben hat dieses Salzgemisch eine günstige Wirkung gezeigt. Trotzdem konnte er niemals die Tiere ohne Oryzaninzugabe länger als 4 Wochen am Leben erhalten. Wird der alkoholische Extrakt der Kleie oder Rohoryzanin (I) nebst Röhmannschem Salzgemisch den Tauben oder Mäusen gegeben, so bleiben sie nicht nur beliebig lange am Leben, sondern nehmen bedeutend an Gewicht zu.

Vgl. Röhmann, Allg. med. Zentral-Ztg. 1908, Nr. 9.

D. Hunde.

Versuch 1.

Ein ausgewachsener Hund von mittlerer Größe (6,47 kg) wurde mit gekochtem Reis und ausgekochtem Rückstand von Pferdefleisch nebst einer kleinen Menge Kochsalz gefüttert. Er fraß am Anfang sehr gut. Nach 14 Tagen ging der Appetit beträchtlich zurück. Er wollte den Reis nicht und suchte nur nach Fleisch, und das Körpergewicht nahm nach und nach ab; nach 3 Wochen hatte er die Eßlust vollständig verloren. Eine weitere Woche lebte er fast ausschließlich von Wasser, bis er schließlich abgemagert und ermattet war. Das Körpergewicht ging bis auf 5,8 kg herunter. Nach 2 bis 3 Tagen wäre er zweifellos zugrunde gegangen. Zu diesem Zeitpunkt, also am 29. Tage, wurden 3 g alkoholischer Extrakt der Kleie (= 30 g Kleie) in wenig Wasser gelöst und per os gegeben. Schon am nächsten Tage kam etwas Eßlust zurück und nach dem 3. Tage war der Appetit ganz normal. Das Körpergewicht hat auch allmählich zugenommen und nach 32 Tagen (d. h. am 60. Tage von Anfang an) hat er 7,30 kg erreicht. Hier wurde die Zugabe des alkoholischen Extrakts eingestellt. Noch eine Woche hat das Körpergewicht immer zugenommen bis auf 7,9 kg und nachher ging es wieder allmählich zurück; der Appetit hatte wieder nachgelassen. Der Hund fraß nur Fleisch und schließlich wollte er gar nichts mehr; nach 38 Tagen (d. h. am 98. Tage von Anfang an) kam das Körpergewicht bis auf 6,10 kg herunter und das Tier war sehr ermattet. So wurden am nächsten Tage 0,4 g Rohoryzanin (I) per os gegeben. Diesmal war die Wirkung noch deutlicher als beim alkoholischen Extrakt: am 2. Tage hat er wieder normalen Appetit bekommen und wurde vollständig gesund und munter. Nach 20 Tagen (118 Tage von Anfang an) stieg das Körpergewicht bis auf 7,9 kg. Hierauf wurde die Oryzaninzugabe eingestellt. Die Folge dessen war genau so wie die Erwartung. Der Hund verlor diesmal etwas schneller den Appetit als das erste Mal und nach 20 Tagen war er schon ermattet und das Körpergewicht ging bis auf 5,90 kg herunter. Jetzt wurden ihm anstatt Oryzanin ca. 3 g alkoholischer Extrakt[1]) des Pferdefleisches (= aus 150 g frischem Fleisch) gegeben. Die Wirkung der letzteren war ebenso deutlich wie bei Oryzanin. Das Tier hat sich sehr rasch erholt und am 20. Tage erreichte es 7,5 kg. Nach Einstellung der Zugabe des alkoholischen Extrakts des Pferdefleisches war er wieder sehr schnell abgemagert und ermattet. Der Versuch wurde weiter fortgesetzt, immer mit demselben Resultate. (Vgl. Fig. 7 und Tabelle XXVIII.)

Versuch 2.

Derselbe Versuch wurde nochmals mit einem kleineren ausgewachsenen Hunde (Körpergewicht 4,49 kg) wiederholt. Der Verlauf war genau derselbe wie beim ersten Hunde. Ohne Oryzaninzugabe konnte der Hund mit gekochtem Reis und ausgekochtem Rückstand des Pferde-

---

[1]) 100 g frisches Pferdefleisch lieferten 2,1 g alkoholischen Extrakt, welcher 0,2244 g Gesamt-N, 0,0909 g Basen-N und 0,520 g Asche enthielt. Eiweiß war nicht vorhanden.

fleisches nicht existieren und am 28. Tage war er vollständig ermattet. Das Körpergewicht sank bis auf 3,7 kg. Hiernach bekam er 4 g alkoholischen Extrakt der Kleie. Er erholte sich ebenso rasch wie der erste Hund. Vom 42. Tage an hat er täglich 10 g Margarinebutter daneben bekommen. Der Appetit wurde immer größer. Am 60. Tage hat er das Gewicht von 4,9 kg erreicht. Hier wurde die Oryzaninzugabe eingestellt. Trotzdem hat er noch beinahe 3 Wochen nicht an Gewicht verloren; dann ging der Appetit allmählich zurück und am 98. Tage sank das Gewicht bis auf 3,8 kg herunter und das Tier ging schließlich zugrunde.

Versuch 3.

Der dritte Versuch wurde mit einer Hündin ausgeführt, die noch 2 junge Hündchen säugte. Ohne Oryzanin war sie in 3 Wochen schon ermattet und gab keine Milch mehr. Hierauf wurde 0,4 g Rohoryzanin eingegeben. Die Wirkung desselben war ebensogut wie beim alkoholischen Extrakt selbst. Nach 20 Tagen (am 49. Tage vom Anfang an) hat sie wieder 6,6 kg erreicht. Nach Einstellung des Oryzanins hat sie beinahe 4 Wochen nichts an Gewicht verloren, dann ging es allmählich herunter. (Vgl. Tabelle XXIX und Fig. 7.)

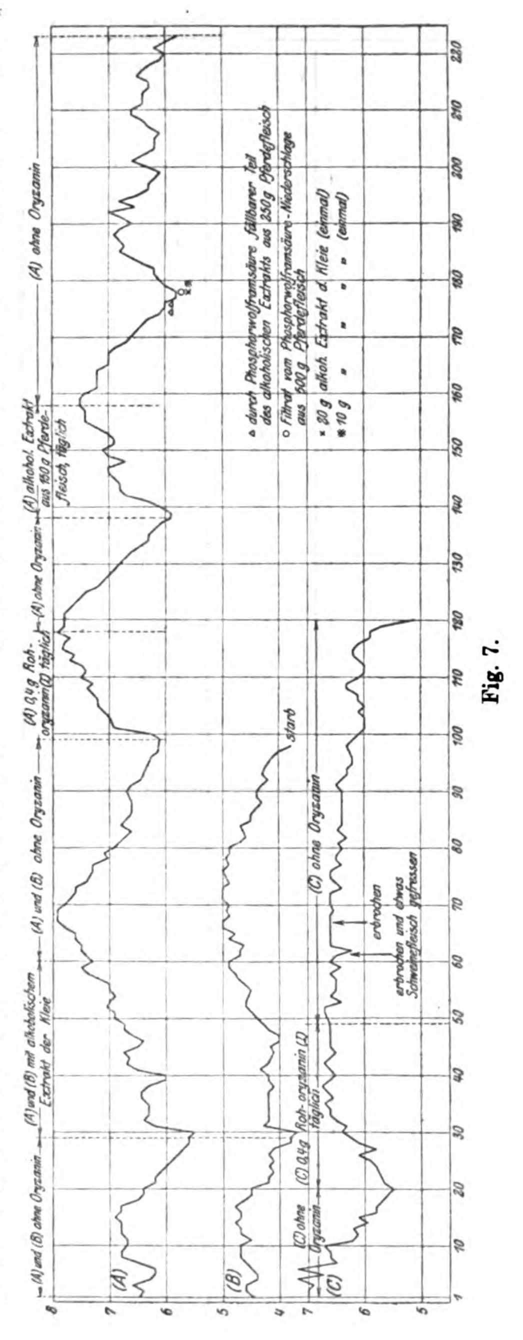


Fig. 7.

Tabelle XXVIII.

	Versuchs-tage	Körpergewicht (A)	Körpergewicht (B)	Bemerkungen
(A) und (B) ohne Oryzanin	1	6,47	4,49	(A) (B) gesund
	2	6,40	4,60	
	3	6,60	4,60	
	4	6,30	4,40	
	5	6,20	4,40	
	6	6,20	4,50	
	7	—	—	
	8	6,80	4,70	
	9	6,80	4,70	
	10	6,70	4,70	
	11	6,70	4,50	Allmählich Appetit verloren
	12	6,80	4,70	
	13	6,80	4,70	
	14	6,80	4,80	
	15	6,90	4,70	
	16	6,80	4,70	
	17	6,80	4,80	
	18	6,50	4,60	
	19	6,40	4,50	
	20	6,40	4,50	
	21	6,20	4,20	Frißt nur Fleisch; (A) Er-
	22	6,20	4,20	brechen, Faeces weich
	23	6,10	4,10	(A) (B) nichts gefressen
	24	6,00	4,20	Ermattet
	25	5,90	4,10	
	26	5,80	4,20	
	27	5,70	4,10	
	28	5,60	3,80	Schwach
(A) und (B) mit alkoholischem Extrakt der Kleie	29	5,60	3,80	(A) (B) 3 g alk. Extrakt per
	30	5,50	3,70	os gegeben
	31	6,20	4,30	Wieder Appetit
	32	6,40	4,20	Viel gefressen
	33	6,30	4,20	
	34	6,30	4,20	
	35	6,30	4,20	
	36	6,45	4,20	
	37	6,45	4,20	
	38	6,30	4,10	(A) etwas appetitlos
	39	6,00	4,20	
	40	6,00	4,20	
	41	6,50	4,35	(A) wieder Appetit bekommen
	42	6,70	4,20	(B) bekommt täglich 10 g
	43	6,65	4,15	Margarine
	44	6,75	4,10	
	45	6,50	4,15	(A) vollkommen gesund
	46	6,40	4,00	
	47	6,55	4,00	
	48	6,75	4,20	
	49	6,75	4,30	
	50	6,90	4,40	
	51	6,90	4,50	

Tabelle XXVIII (Fortsetzung).

	Versuchs-tage	Körpergewicht		Bemerkungen
		(A)	(B)	
(A) und (B) mit alkoholischem Extrakt der Kleie	52	7,05	4,60	
	53	7,00	4,60	
	54	6,90	4,55	
	55	7,00	4,50	
	56	7,00	4,60	
	57	7,20	4,75	
	58	7,40	4,80	
	59	7,50	4,90	(A) (B) vollständig gesund
	60	7,30	4,90	
(A) und (B) ohne Oryzanin	61	7,40	4,70	(A) (B) Alkoholextrakt eingestellt
	62	7,50	4,70	
	63	7,50	4,65	
	64	7,60	4,90	
	65	7,60	4,80	
	66	7,80	5,00	
	67	7,90	5,00	
	68	7,90	4,90	
	69	7,90	4,95	
	70	7,80	4,90	(A) Appetit zurück
	71	7,70	5,00	
	72	7,60	5,00	
	73	7,60	5,00	
	74	7,40	4,90	
	75	7,35	4,95	
	76	7,30	5,00	(B) Appetit zurück
	77	7,30	4,90	
	78	7,05	4,95	
	79	7,10	4,90	
	80	6,90	4,90	
	81	6,80	4,70	
	82	6,70	4,60	(B) fraß nur Fleisch
	83	6,60	4,65	
	84	6,80	4,75	
	85	6,70	4,55	
	86	6,60	4,50	
	87	6,60	4,40	
	88	6,60	4,30	(A) fraß nur wenig Fleisch
	89	6,70	4,40	
	90	6,60	4,40	
	91	6,45	4,35	(B) appetitlos
	92	6,40	4,20	(A) nichts gefressen
	93	—	4,30	
	94	6,35	4,25	(B) schwach; Erbrechen
	95	6,30	4,20	
	96	6,25	4,10	(B) sehr schwach
	97	6,15	4,00	
	98	6,15	3,80	(A) schwach
(A) 0,4 g Rohoryzanin (I) täglich	99	6,10	starb	(A) 0,4 g Rohoryzanin (I) per os
	100	6,25		
	101	6,90		Appetit kommt wieder
	102	6,95		Gesund

Tabelle XXVIII (Fortsetzung).

	Versuchstage	Körpergewicht (A)	Körpergewicht (B)	Bemerkungen
(A) 0,4 g Roh-oryzanin (I) täglich	103	7,00		
	104	7,10		
	105	7,20		
	106	7,20		
	107	7,30		
	108	7,40		
	109	7,30		
	110	7,50		
	111	7,40		
	112	7,50		
	113	7,70		
	114	7,60		
	115	7,80		
	116	7,80		
	117	7,75		
	118	7,90		Vollständig gesund
(A) ohne Oryzanin	119	7,80		Oryzanin eingestellt
	120	7,80		
	121	7,80		
	122	7,70		
	123	7,60		
	124	7,50		
	125	7,40		
	126	7,20		
	127	7,10		
	128	7,00		
	129	6,90		
	130	6,80		
	131	6,70		
	132	6,60		
	133	6,45		
	134	6,30		
	135	6,30		
	136	6,20		
	137	6,05		
	138	5,90		
Alkoholischer Extrakt aus 150 g Pferdefleisch täglich	139	5,90		
	140	6,10		
	141	6,30		
	142	6,70		
	143	6,80		
	144	6,80		
	145	6,90		
	146	7,00		
	147	7,00		
	148	6,70		
	149	7,00		
	150	7,10		
	151	6,90		
	152	6,90		
	153	7,00		

Tabelle XXVIII (Fortsetzung).

	Versuchstage	Körpergewicht (A)	Körpergewicht (B)	Bemerkungen
Alkoholischer Extrakt aus 150 g Pferdefleisch täglich	154	7,20		
	155	7,40		
	156	7,40		
	157	7,40		
	158	7,50		Gesund und munter
	159	7,50		
	160	7,40		
	161	7,20		
	162	7,20		
	163	7,20		
	164	7,20		
	165	7,00		
	166	7,00		
	167	7,00		
	168	6,90		
	169	6,70		
	170	6,60		Eßlußt nachgelassen
	171	6,50		
	172	6,40		*) Durch Phosphorwolframsäure fällbarer Teil des alkalischen Extrakts aus 250 g Pferdefleisch. Keine Wirkung.
	173	6,30		
	174*)	6,10		
	175*)	6,00		
	176	6,00		
	177	5,80		**) Filtrat von Phosphorwolframsäure Niederschlag aus 500 g Pferdefleisch keine Wirkung und Erbrechen; so wurde der Alkoholextrakt aus †) 200 g Kleie und am nächsten Tage derselbe aus 100 g Kleie gegeben.
	178**)	5,80		
	179†)	6,00		
	180	6,10		
	181	6,20		
	182	6,20		
	183	6,40		
	184	6,60		
	185	6,80		Das Tier war wieder geheilt und hat Appetit bekommen.
	186	6,70		
	187	6,80		
	188	6,90		
	189	—		
	190	6,60		
	191	—		
	192	7,00		
	193	6,50		
	194	6,80		
	195	6,50		
	196	6,30		
	197	6,30		
	198	6,20		
	199	6,10		
	200	—		
	201	6,60		Etwas gefressen
	202	6,40		
	203	6,20		
	204	6,20		
	205	6,20		

Tabelle XXVIII (Fortsetzung).

	Versuchstage	Körpergewicht (A)	Körpergewicht (B)	Bemerkungen
	206	6,10		
	207	6,30		
	208	6,40		
	209	6,60		Etwas gefressen
	210	6,60		
	211	6,40		
	212	6,40		
	213	6,40		
	214	6,30		
	215	6,30		Allmählich schwach
	216	6,50		
	217	6,40		Appetitlos
	218	6,30		Nichts gefressen
	219	6,10		
	220	6,00		
	221	6,20		
	222	6,00		
	223	5,80		Ermattet
				Versuch fortgesetzt 0,5 g Alkoholextrakt der Kleie täglich gegeben; wieder geheilt und nahm an Gewicht zu

Tabelle XXIX.

	Versuchstage	Körpergewicht (C)	Bemerkungen
Reis + ausgekochtes Pferdefleisch	1	7,00	Gesund
	3	6,90	
	5	6,70	
	7	6,50	
	9	6,60	
	11	6,20	
	13	6,20	Appetit nachgelassen
	15	6,10	
	17	5,80	Schwach
	19	5,60	Ermattet
0,4 g Rohoryzanin (I) täglich	20	5,50	
	21	5,65	
	22	5,70	Geheilt; Appetit bekommen
	23	5,75	
	25	5,90	Gesund und munter
	27	5,80	
	29	6,20	
	31	6,30	

Tabelle XXIX (Fortsetzung).

	Versuchstage	Körpergewicht (C)	Bemerkungen
0,4 g Roh-oryzanin (I) täglich	33	6,60	
	35	6,70	
	37	6,60	
	39	6,60	
	41	6,60	
	43	6,60	
	45	6,60	
	47	6,60	
	49	6,60	Gesund
Ohne Oryzanin	51	6,70	
	53	6,40	
	55	6,50	
	57	6,50	
	59	6,40	
	61*)	6,50	*) Herausgekommen und etwas Schweinefleisch gefressen
	63	6,60	
	65	6,60	
	67**)	6,60	**) Wieder herausgekommen
	69	6,55	
	71	6,60	
	73	6,40	
	75	6,60	
	77	6,40	
	79	6,50	
	81	6,50	
	83	6,30	
	85	6,50	
	87	6,40	
	89	—	
	91	6,50	
	93	6,30	
	95	6,20	
	99	6,20	
	101	6,00	
	103	6,00	
	105	6,00	Allmählich schwach
	107	6,10	Appetitlos
	109	6,30	
	111	6,00	
	113	6,10	
	115	6,20	
	117	5,90	Nichts gefressen
	119	5,70	
	120	5,10	Ermattet; 0,5 g Alkoholextrakt der Kleie
			Versuch fortgesetzt. Mit 0,5 g Alkohoholextrakt der Kleie wieder geheilt und nahm an Gewicht zu.

Das Futtergemisch hatte folgende Zusammensetzung:
500 g geschälter Reis,
120 g ausgekochter Rückstand von Pferdefleisch[1]),
5 g Kochsalz,
5 g Salzgemisch (KH_2PO_4, $Ca_2H_2(PO_4)_2$, $MgCO_3$, $CaCO_3$).

Aus diesem Resultat sieht man also, daß das Leben des Hundes vollständig unter Kontrolle des alkoholischen Extrakts der Kleie bzw. des Oryzanins steht. Die Wirkung des alkoholischen Extrakts aus Pferdefleisch war ebenso gut wie beim Oryzanin. Da der alkoholische Extrakt aus Fleisch auf Tauben und Hühner fast wirkungslos war, so muß man annehmen, daß der wirksame Stoff des Fleisches mit dem Oryzanin nicht identisch ist. Beim Hunde (und bei Mäusen) kann der eine den anderen vertreten, während bei Tauben und Hühnern dies nicht der Fall ist.

Wir haben schon einige Versuche angestellt, um diesen wirksamen Stoff im Fleische ausfindig zu machen. Wenn der alkoholische Extrakt des Fleisches in Wasser gelöst und mit Bleiessig gefällt wird, so findet man im Filtrate des Niederschlages keine Wirkung mehr. Man muß deshalb annehmen, daß der wirksame Stoff entweder durch Bleiessig mitgerissen wird oder während der Verarbeitung zerstört wird. Wir wollen uns mit dieser Frage weiter beschäftigen.

IV. Über die Verbreitung des Oryzanins in verschiedenen Futtermitteln.

Da wir noch keine zuverlässige Bestimmungsmethode des Oryzanins gefunden haben, so bleibt uns nichts übrig, als durch Tierversuche die Verbreitung und annähernde Quantität desselben in verschiedenen Futtermitteln festzustellen. Zu diesem Zwecke haben wir hauptsächlich Tauben und Mäuse benutzt. Die Tiere werden so lange mit geschältem Reis gefüttert, bis sie schließlich krank werden, hierauf gibt man den alkoholischen Extrakt der verschiedenen Futtermittel per os oder mit Reis gemischt und beobachtet, ob sie geheilt werden

---

[1]) Das frische Fleisch wurde zweimal je eine Stunde mit Wasser gekocht und stark abgepreßt, bis keine löslichen Stoffe mehr vorhanden waren. Der so erhaltene Rückstand enthielt:

Wasser	46,56 %,
Trockensubstanz	53,44 %.

In 100 Teilen Trockensubstanz:

Gesamt-N	15,02 %,
Rohfette	3,51 %,
Asche	0,48 %.

oder nicht. Oder man gibt von Anfang an den alkoholischen Extrakt der betreffenden Futtermittel mit Reis gemischt an gesunde Tiere, um zu sehen, ob sie schließlich krank werden.

Diejenigen Stoffe, die die Tiere gern fressen, haben wir als solche gegeben, z. B. wie Gerste, Weizen, Brot usw. Im folgenden teilen wir einige Versuche in dieser Richtung mit.

Versuch 1,

Weizenkleie.

1. Die käufliche Weizenkleie wurde genau so wie Reiskleie wiederholt mit 85 %igem Alkohol heiß extrahiert. Der alkoholische Auszug wurde abdestilliert. Der zurückgebliebene Sirup wurde mit wenig Wasser verdünnt und wiederholt mit Äther geschüttelt, der Äther verdampft und abfiltriert. Der in der Weise aus 500 g Weizenkleie dargestellte alkoholische Extrakt wurde mit 500 g Reis gemischt, getrocknet und einer gesunden Taube gegeben. Die Taube blieb 16 Tage vollkommen gesund und nahm sogar etwas an Körpergewicht zu.

Tabelle XXX.

Versuchstage	Körpergewicht
1	300
3	308
5	314
7	321
9	331
11	330
13	334
15	335
17	336

2. Wenn der alkoholische Extrakt aus 300 g Weizenkleie mit 1000 g Reis vermischt wird, so genügt dies noch nicht, um eine Taube vor der Erkrankung zu schützen, und das Tier nimmt an Gewicht ab. Wenn aber täglich ein aus 10 g Weizenkleie bereiteter alkoholischer Extrakt noch dazugegeben wird, so wird das Tier sehr rasch geheilt und nimmt an Gewicht zu.

3. Der alkoholische Extrakt der Weizenkleie wurde in wenig Wasser gelöst und unmittelbar mit Tannin gefällt. Der Tanninniederschlag wurde in gewöhnlicher Weise in verdünntem Aceton gelöst, mit Baryt zerlegt und genau so verarbeitet, wie bei der Reiskleie. 0,09 g des so bereiteten Rohoryzanins gab ein positives Resultat.

4. Das aus dem alkoholischen Extrakt der Weizenkleie durch das Phosphorwolframsäureverfahren dargestellte Rohoryzanin war auch wirksam. Man mußte jedoch täglich aus 60 g Kleie dargestelltes Rohoryzanin verwenden, um eine Taube zu heilen.

Tabelle XXXI.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		310	Gesund
		⋮	
		221	
		223	Erkrankt
		217	
0,09 g Rohoryzanin (Tanninverfahren) aus Weizenkleie	1	213	
	3	219	
	5	220	Geheilt
	7	223	
	9	224	
	11	225	
	13	232	
	15	243	
	17	238	
	19	244	Gesund
Reis allein	21	248	
	23	246	
	25	251	
	27	251	
	28	248	Noch nicht erkrankt

Tabelle XXXII.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		270	Gesund
		⋮	
		231	Erkrankt
Rohoryzanin (Phosphorwolframsäureverfahren) aus 60 g Kleie	1	215	
	2	225	
	3	225	Geheilt
	4	226	
	5	229	
	6	223	
	7	227	
	8	230	
	9	225	Gesund

Aus dem oben angegebenen Resultate kann man schließen, daß der Gehalt an Oryzanin in der Weizenkleie etwa $^1/_{10}$ des der Reiskleie ist.

Während der Verarbeitung des Phosphorwolframsäureniederschlages haben wir ziemlich viel Betain gefunden. Wenn der Niederschlag in gewöhnlicher Weise durch Baryt zerlegt und der Überschuß

von Baryt mittels Schwefelsäure genau entfernt wird, so erhält man eine schwach alkalisch reagierende Flüssigkeit, die neben Oryzanin ziemlich viel Betain enthält. Wird nun diese Flüssigkeit stark eingeengt und mit Äthylalkohol und Aceton versetzt, so scheidet sich ein wenig eines anorganischen Salzes ab. Man filtriert davon ab, dampft das Filtrat weiter ein und läßt einige Tage stehen, so scheiden sich die charakteristischen Krystalle des Betains als hygroskopische, farblose Tafeln aus; es hat einen angenehmen, süßen Geschmack und zersetzt sich bei zirka 250°, ohne zu schmelzen.

Die Ausbeute an freiem Betain beträgt ca. 6 g aus 1 kg Weizenkleie. Wird die wässerige Lösung des Betains mit Pikrinsäure versetzt, so erhält man das Betainpikrat als citronengelbe Prismen. Einmal aus heißem Wasser umkrystallisiert, schmilzt es bei 180° (unkorr.).

Die Analyse des Pikrats gab folgende Resultate:

1. 0,1510 g Subst. gaben 0,2116 g CO_2, 0,0602 g H_2O.
2. 0,1130 „ „ „ 0,1582 „ „ 0,0482 „ „
3. 0,0912 „ „ „ 13,4 ccm N (21,5°, 757,5 mm).
4. 0,2776 „ „ „ 0,1856 g Pikrinsäure.

		C	H	N	Pikrinsäure
$C_5H_{11}NO_2C_6H_3N_3O_7$ . .	Ber.	38,15	4,05	16,18	66,19
	Gef.	38,21	4,43	16,62	66,86
		38,17	4,74	—	—

Weizenbrot.

Das gewöhnliche Weizenbrot wurde zerkleinert und an zwei Tauben verfüttert. 100 Tage lang blieben sie gesund und normal.

Tabelle XXXIII.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2		1	2		1	2
1	303	300	35	310	328	70	298	310
5	300	260	40	310	332	75	295	310
10	290	270	45	300	325	80	296	300
15	295	285	50	290	308	85	290	285
20	295	280	55	300	324	90	285	282
25	300	298	60	300	310	95	297	295
30	305	307	65	290	300	100	283	296

Versuch 2.

Gerstenkleie.

Wenn man den alkoholischen Extrakt aus 15 g Gerstenkleie täglich einer erkrankten Taube gibt, so wird die Taube sehr rasch geheilt, wie folgende Versuche zeigen.

Wie diese Tabelle zeigt, haben die beiden erkrankten Tauben nach 6tägigem Zusatz vom alkoholischen Extrakt aus 15 g Gerstenkleie sich vollständig erholt und sind später noch 10 Tage lang ohne alkoholischen Extrakt vollständig gesund geblieben. So kann man berechnen,

Tabelle XXXIV.

	Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres 1	2	Bemerkungen
Reis allein		296	310	Gesund
		:	:	
		212	191	
		207	190	Erkrankt
Alkoholischer Extrakt aus 15 g Gerstenkleie täglich	1	208	188	
	2	222	199	Geheilt
	3	229	193	
	4	233	201	
	5	237	203	
	6	244	207	Gesund
Reis allein	7	247	209	
	8	256	210	
	9	257	220	
	10	254	221	
	11	251	222	
	12	249	222	
	13	245	222	
	14	243	227	
	15	236	223	Noch nicht erkrankt

daß der Gehalt an Oryzanin in der Gerstenkleie wenigstens $^1/_5$ des der Reiskleie ist. Wir konnten jedoch kein wirksames Präparat, weder durch Phosphorwolframsäure noch durch das Tanninverfahren bekommen.

Versuch 3.

Hafer.

Der alkoholische Extrakt aus 1 kg Hafer wurde mit 1 kg Reis vermischt, getrocknet und zwei erkrankten Tauben gegeben. Die eine war jedoch schon zu schwach, um genug Futter zu fressen und ging schließlich zugrunde; die andere aber erholte sich allmählich und wurde später vollständig gesund.

Der Gehalt von Oryzanin im Hafer muß deshalb ungefähr $^1/_{10}$ des der Reiskleie sein.

Tabelle XXXV.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Bemerkungen
	1	2	
	:	:	
1	285	227	1, 2 erkrankt
3	294	228	
5	288	221	
7	278	220	
9	267	217	
11	255	212	
13	245	225	
15	239	230	2 geheilt
17	starb	228	
19		228	
21		233	
23		238	
25		243	
27		245	2 gesund

Versuch 4.

Hirse.

Der alkoholische Extrakt aus 50 g Hirse täglich war genügend, um eine erkrankte Taube zu heilen.

Tabelle XXXVI.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		286	Gesund
		:	
		249	
		246	Erkrankt
Alkoholischer Extrakt aus 50 g Hirse	1	246	
	3	250	Geheilt
	5	257	
	7	264	
	9	270	
	10	273	Gesund
Reis allein	12	273	
	14	280	
	16	275	
	18	274	
	20	265	Gesund
	22	261	
	24	250	
	25	246	Allmählich schwach

Versuch 5.

Brassica var. (Kyona).

400 g der lufttrockenen Blätter und Stengel von Brassica var. wurden mit heißem 85%igem Alkohol wiederholt extrahiert. Der alkoholische Extrakt wurde mit 400 g Reis vermischt, getrocknet und einer Taube eingegeben. Die Taube hat 17 Tage lang nichts an Körpergewicht verloren. Nach 18 Tagen wurde der alkoholische Extrakt auf die Hälfte reduziert. Nun nahm das Körpergewicht allmählich ab und schließlich erkrankte das Tier.

Tabelle XXXVII.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Alkoholischer Extrakt aus 400 g Brassica var. auf 400 g Reis	1	235	Gesund
	3	250	
	5	243	
	7	237	
	9	248	
	11	260	
	13	256	
	15	260	
	17	268	Gesund
Alkoholischer Extrakt aus 200 g Brassica auf 400 g Reis	19	262	
	21	258	
	23	257	
	25	250	
	27	246	
	29	239	
	31	234	
	33	232	Schwach
	34	227	Erkrankt

Der Gehalt an Oryzanin in lufttrockener Brassica muß also ungefähr $^1/_{10}$ des der Reiskleie sein.

Weder durch Phosphorwolframsäure noch durch Tannin konnten wir ein wirksames Präparat erhalten.

Versuch 6.

Hühnereier.

250 g frische Hühnereier (Schale ausgenommen) wurden mit 500 g Reis vermischt, vorsichtig getrocknet und an zwei Tauben verfüttert. Nach 2 Wochen waren die beiden Tauben stark ermattet und erkrankt. Hierauf wurde der alkoholische Extrakt der Weizenkleie per os gegeben; sie wurden sehr rasch geheilt und das Körpergewicht hatte auch stark zugenommen. Daß die Eier keine schädlichen Bestandteile für die

Tauben in sich enthalten, sondern daß die Erkrankung bloß durch Mangel an Oryzanin hervorgerufen ist, geht ganz klar aus diesem Versuche hervor.

Tabelle XXXVIII.

	Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Bemerkungen
		1	2	
Reis + Hühnereier	1	242	242	Gesund
	2	256	256	
	3	262	278	
	4	265	284	
	5	265	287	
	6	260	289	
	7	257	280	
	8	245	267	
	9	237	259	
	10	221	246	
	11	217	235	
	12	210	227	
	13	205	219	
	14	215	214	Erkrankt
Reis + Hühnereier + alkoholisch. Extrakt aus Weizenkleie	15	203	206	
	16	210	223	Geheilt
	17	227	226	
	18	238	232	
	19	247	243	
	20	256	248	
	21	257	257	
	22	258	260	Gesund

Versuch 7.

Kuhmilch.

Wenn man die Taube mit Reis und alkoholischem Extrakt von Kuhmilch füttert, so lebt das Tier etwas länger als mit Reis allein, trotzdem verliert es allmählich an Körpergewicht und wird schließlich krank. Auch frische Milch wirkt kaum besser als der alkoholische Extrakt. Wird das Oryzanin in diesem Falle der erkrankten Taube gegeben, so wird das Tier in einigen Tagen geheilt, oder wenn das Oryzanin von Anfang an mit Milch zusammengegeben wird, so bleibt das Tier längere Zeit gesund und normal. Hieraus muß man schließen, daß der Milch nur Oryzanin fehlt. Etwas anders verhält sich die Milch gegen Mäuse[1]). Das letztgenannte Tier kann natürlich längere Zeit von Reis und Milch leben, wie auf den folgenden Seiten beschrieben wird.

---

[1]) P. B. Osborne, Science N. S. 34, Nr. 882, S. 722 bis 732 (24. Nov. 1911).

Versuch 8.

Adzukibohnen.

1. Der alkoholische Extrakt aus 300 g Adzukibohnen wurde mit 100 g Reis vermischt und an zwei Tauben verfüttert. Sie erkrankten ebenso schnell wie mit Reis allein. In 12 Tagen hat eine Taube von 296 bis 231 g und die andere von 287 bis 223 g abgenommen und beide waren sehr geschwächt. Hierauf wurde der einen Taube der alkoholische Extrakt aus 9 g Adzukibohnen per os gegeben, ohne günstige Wirkung zu zeigen.

2. In diesem Versuche wurden zwei Tauben ausschließlich mit zerkleinerten Bohnen gefüttert. Sie fraßen täglich 20 bis 25 g Bohnen und blieben längere Zeit gesund. Das Körpergewicht nahm auch allmählich zu.

Tabelle XXXIX.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2		1	2		1	2
1	304	301	25	310	312	47	305	315
3	288	285	27	315	312	49	325	330
5	295	300	29	317	312	51	315	320
7	294	304	31	313	313	53	317	321
9	298	302	33	315	315	55	317	322
11	295	305	35	311	308	57	299	298
13	300	300	37	315	315	59	311	321
15	308	303	39	318	320	61	313	326
17	314	312	41	321	312	63	306	318
19	310	308	43	315	320	65	315	332
21	306	300	45	—	—	67	310	325
23	307	305						

Demnach ist der Gehalt an Oryzanin in Adzukibohnen höchstens $^{1}/_{10}$ des der Reiskleie.

Versuch 9.

Sojabohnen.

1. Der alkoholische Extrakt aus 300 g Sojabohnen wurde mit 1000 g Reis vermischt und zwei gesunden Tauben gegeben. Auch in diesem Falle wurde keine Schutzwirkung beobachtet. Die eine hatte von 307 bis 241 g und die andere von 318 bis 258 g abgenommen.

2. Wenn man aber den Tauben nicht den alkoholischen Extrakt der Sojabohnen, sondern die Bohnen selbst gibt, so bleiben die Tiere längere Zeit gesund.

Demnach muß man annehmen, daß in Sojabohnen nicht viel Oryzanin vorhanden ist.

Tabelle XL.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres		Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres	
	1	2		1	2		1	2
1	308	303	25	325	336	49	324	318
3	310	315	27	320	335	51	328	320
5	310	323	29	330	348	53	321	321
7	309	—	31	327	332	55	—	—
9	304	—	33	335	340	57	324	307
11	305	—	35	327	337	59	321	303
13	314	—	37	325	330	61	325	323
15	316	—	39	330	338	63	322	323
17	320	318	41	330	332	65	328	322
19	320	322	43	326	329	67	331	323
21	322	325	45	320	320	69	325	323
23	317	327	47	330	320	71	324	320

Versuch 10.

Entkleiete Gerste.

1. Käufliche entkleiete Gerste, die zum Kochen fertig ist, wurde an 2 Tauben verfüttert, ohne daß dieselben längere Zeit hindurch krank wurden. Weitere 2 Tauben wurden mit in Wasser gekochter Gerste gefüttert; sie blieben auch längere Zeit gesund. So scheint es, daß beim Entkleien und Kochen noch eine genügende Menge Oryzanin zurückbleibt, um die Tauben vor Erkrankung zu schützen.

Tabelle XLI.

Versuchstage	Körpergewicht und Nummer des Tieres			
	Entkleiete Gerste		Dieselbe mit Wasser gekocht	
	1	2	3	4
1	270	280	275	310
5	256	295	282	302
10	268	302	279	297
15	272	305	272	295
20	297	315	300	310
25	282	317	292	308
30	276	317	313	328
35	260	302	310	310
40	270	315	316	323
45	265	320	312	315
50	263	312	318	314
55	245	320	325	324
60	230	318	325	340
65	220	325	320	335
70	230	323	318	313
75	215	321	323	330
80	230	330	306	303
85	Entflohen	333	320	323

Bei Gerste ist die Kleieschicht nicht so scharf von dem inneren Teil getrennt wie beim Reis, so daß beim Polieren immer noch etwas Schale zurückbleibt. Wahrscheinlich findet sich im Kern selbst auch etwas Oryzanin.

Versuch 11.

Gerstenmalz.

Das Brauermalz, das wir von Herrn Braumeister Dr. Jagi aus der Sapporo-Brauerei bekommen haben, wurde fein zerkleinert und mit heißem Alkohol wiederholt extrahiert. Die alkoholischen Auszüge wurden nach dem Verdampfen des Alkohols in wenig Wasser gelöst und wiederholt mit Äther geschüttelt, klar abfiltriert und weiter konzentriert. Der auf diese Weise dargestellte alkoholische Extrakt hat sich als wirksam erwiesen. Man mußte jedoch ziemlich große Mengen desselben anwenden. Der Extrakt aus 50 g Malz war kaum genug, um eine erkrankte Taube zu heilen. Derselbe aus 75 g reichte schon aus, um das Tier längere Zeit im Gleichgewicht zu halten.

Tabelle XLII.

	Versuchstage	Körpergewicht	Bemerkungen
Reis allein		⋮	
		247	Gesund
		⋮	
		214	Erkrankt
Alkoholischer Extrakt aus 50 g Malz täglich	1	202	
	2	217	
	3	213	
	4	212	
	5	212	
	6	215	Geheilt
Derselbe aus 75 g Malz	7	210	
	8	207	
	9	215	
	10	213	
	11	218	
	12	219	
	13	219	
	14	212	
	15	221	
	16	218	
	17	218	Gesund
Reis allein	19	233	
	21	223	
	23	230	
	25	235	
	27	228	Gesund
	29	220	
	31	209	
	33	198	Erkrankt

Versuch 12.

Bier.

Das „Münchner“ Bier aus der Yebisu-Brauerei wurde bei gelinder Wärme zu einem Sirup eingedampft und mit heißem $90^{0}/_{0}$igem Alkohol extrahiert. Der alkoholische Extrakt wurde wieder eingedampft und nochmals mit heißem Alkohol extrahiert. Der in dieser Weise aus 500 ccm Bier gewonnene Extrakt wurde täglich einer erkrankten Taube gegeben, hatte aber keine Schutzwirkung.

Es scheint also, daß das Oryzanin im Malz während des Gärprozesses verloren gegangen ist.

Versuch 13.

Gewöhnliche Möhre: Ninjin (Daucus carota).

Der alkoholische Extrakt aus 100 g frischer Möhren hatte keine Schutzwirkung. Auch konnten wir durch das Tanninverfahren kein wirksames Präparat bekommen. Ob wirklich Oryzanin darin fehlt, muß durch weitere Versuche noch festgestellt werden, weil Kaninchen entweder mit Möhren allein oder mit Möhren und Reis gefüttert längere Zeit gesund geblieben sind.

Versuch 14.

Raphanusblätter (Daikon).

Das aus 100 g lufttrockenen Raphanusblättern durch Tanninverfahren dargestellte Rohoryzanin hatte Schutzwirkung, obgleich diese nicht sehr stark war.

Versuch 15.

Miso und Schoyu.

Da Miso sehr stark salzhaltig ist, kann man sie natürlich nicht direkt an Tauben geben, auch dessen alkoholischer Extrakt enthält eine beträchtliche Menge Salze und Extraktivstoffe; so haben wir mittels des Phosphorwolframsäureverfahrens aus alkoholischem Extrakt ein Rohoryzaninpräparat dargestellt. Die Wirkung desselben war jedoch nur unbedeutend.

Vielleicht kann man am Hund oder an der Katze, die gerne Miso fressen, noch besser entscheidende Resultate bekommen. Es bleibt nur die Frage, ob man mit größerer Menge ein etwas wirksames Präparat bekommen kann. Jedenfalls ist es sicher, daß sowohl Miso wie Schoyu keine nennenswerte Menge Oryzanin enthalten.

V. Zusammenfassung der Resultate.

1. Hühner, Tauben, Mäuse und einige andere Tiere werden durch ausschließliches Füttern mit geschältem Reis leicht krank und gehen unter starker Abnahme des Körpergewichts

zugrunde. Diese Erscheinung ist durch Mangel an einem Stoffe im Reis, der für die Erhaltung des tierischen Lebens absolut notwendig ist, bedingt.

2. Dieser unentbehrliche Stoff ist nun aus Reiskleie in reinem Zustande isoliert worden. Wir haben für diesen Stoff den Namen „Oryzanin" vorgeschlagen.

Das Oryzanin nimmt eine ganz besondere und ebenso wichtige Stellung im Haushalte des tierischen Lebens ein, wie Eiweiß, Fett, Kohlenhydrate und Salze. Ohne diese können die letztgenannten Stoffe keine physiologische Funktion entfalten.

3. Jedes Futtermittel, dem Oryzanin fehlt, kann das Leben des Tieres nicht längere Zeit erhalten.

4. Die künstlichen Futtergemische aus Eiweiß, Kohlenhydrat, Fett und Salzen, ohne Oryzanin, konnten das Leben des Tieres nicht längere Zeit erhalten.

5. Hunde konnten nicht mit ausgekochtem Fleisch und geschältem Reis existieren, und nach 3 bis 4 Wochen waren sie vollständig abgemagert. Wenn man aber so abgemagerten Hunden täglich 3 g alkoholischen Extrakt oder 0,3 g Oryzanin zuführt, so werden sie bald geheilt.

6. Die Verbreitung des Oryzanins in verschiedenen Nahrungsmitteln ist ziemlich groß. Da aber der geschälte Reis bei uns in Japan ein Hauptnahrungsmittel des Volkes bildet, so kann der Mangel an Oryzanin sehr oft eintreten, besonders bei denjenigen Leuten, die immer von bestimmten, wenigen Nahrungsmitteln leben und keine Abwechslung haben, wie die Leute in Werkstätten, Läden, Gefängnissen usw.

Was wird nun der Effekt des Mangels an Oryzanin bei Menschen sein? Viele Mediziner behaupten, daß die Beriberikrankheit durch geschälten Reis verursacht wird[1]). In den Philippinen ist man sogar so weit gekommen, daß das Essen des geschälten Reises verboten wird.

---

[1]) Vergleiche die Arbeiten von Breaudat und Denier: The use of rice bran in the prevention and cure of beriberi. Annales de l'Inst. Pasteur 25, Nr. 2, S. 167 bis 189, 1911. — Breaudat, Studies on the protective power of bran in a polished rice diet. Bull. soc. Path. Exot. 4, Nr. 7, S. 498 bis 502, 1911. — W. P. Chamberlain, H. P. Bloombergh and

Wir wollen das Studium der Beriberi, besonders der Beziehungen zwischen dieser Krankheit und Reisnahrung, Medizinern überlassen und beabsichtigen, später über die chemische Natur des Oryzanins und seine physiologische Funktion bei Tieren weitere Aufklärung zu geben.

H. P. Kilbourne, Study of the influence of rice diet and of inanition on the production of multiple neuritis of fowls and the bearing there of on the etiology of beriberi. Philippine Journ. Sci. B. Med. Sci. 6, Nr. 3, S. 177 bis 209, 1911. — G. Heiser, Practical experience wich beriberi and unpolished rice in the Philippines. Philippine Journ. Sc. B. Med. Sci. 6, Nr. 3, S. 229 bis 233, 1911. — H. D. W. Greig, Rice in relation to beriberi, in epidemic dropsy in Calcutta. Sci. Mem. Med. and Sanit. Dept. India n. ser. 1911, Nr. 45. — C. Toyama, Rice and Beriberi. Zeitschr. f. med. Mikroskopie Nr. 104, Dez. 1911.

Über die Wirkung ultravioletter Strahlen auf Stärke.

Von

Jan Bielecki und René Wurmser.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Paris [Sorbonne].)

(Eingegangen am 12. Juni 1912.)

Mit 3 Figuren im Text.

Zu den wichtigen Reaktionen, die in den Pflanzen unter der Wirkung der strahlenden Energie vor sich gehen, gehören auch diejenigen der Synthese und des Abbaues der verschiedenen Kohlenhydrate, der Stärke im besonderen. Ob man die v. Bayersche Hypothese der ursprünglichen Bildung des Zuckers aus Formaldehyd resp. aus Kohlensäureanhydrid annimmt und die Stärke als Reservestoff betrachtet, oder ob man nach Sachs glaubt, daß Stärke das erste Assimilationsprodukt der Pflanze sei, in beiden Fällen ist es interessant zu untersuchen, ob sich durch die Belichtung der Stärkelösungen durch künstliche oder natürliche Strahlenarten die Einsicht in die Erkenntnis des Mechanismus der zweiten Phase der Pflanzenernährung, d. h. des schrittweise vor sich gehenden Abbaues der Stärke, nicht erreichen läßt.

Die experimentelle Untersuchung der Wirkung der strahlenden Energie sowohl bei der Synthese wie auch bei dem Abbau der verschiedenen Kohlenhydrate war in den letzten paar Jahren das Thema vieler Arbeiten seitens verschiedener Forscher.

Sehr interessante Versuche der photochemischen Synthese der Kohlenhydrate aus Kohlensäureanhydrid und Wasserstoff in Abwesenheit von Chlorophyll wurden im Jahre 1910 von Julius Stoklasa und Wenzel Zdobnický[1]) in Prag ausgeführt. Diese Forscher haben ge-

[1]) Diese Zeitschr. **30**, 433, 1911; auch Centralbl. f. Bakt., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten **31**, 477, 1911. Während der Korrekturdurchsicht ist in dieser Zeitschr. **41**, 333, 1912 noch eine interessante Arbeit von Julius Stoklasa, Johann Šebor und Wenzel Zdobnický über dasselbe Thema erschienen, auf die wir nur hinweisen, ohne näher darauf eingehen zu können.

funden, daß unter der Einwirkung ultravioletter Strahlen einer Quecksilberquarzlampe von 110 Volt und 4 Ampère (Allgem. Elektrizitäts-Gesellschaft) auf Kohlendioxyd und Wasserstoff, welch letzterer in statu nascendi vorhanden ist, eine Photosynthese des Formaldehyds nach folgender Gleichung vor sich ging:

$$2\,CO_2 + 2\,H_2 = 2\,HCOH + O_2.$$

Der gebildete Formaldehyd kondensierte sich bei Gegenwart von Kaliumhydroxyd zu Zucker oder zu mehreren gärungsunfähigen Zuckern, aus denen man zwei Gruppen Phenylosazone isolierte: die eine vom Schmelzpunkte 188 bis 192°, die zweite vom Schmelzpunkte 196 bis 200°.

Viel zahlreicher sind in den letzten vier Jahren die Untersuchungen gewesen, die das Studium der Umwandlungsprozesse der verschiedenen Kohlenhydrate unter der Einwirkung sowohl der natürlichen wie der künstlichen Strahlenarten als Ziel hatten und die ausgeführt worden sind von C. Neuberg[1]) und seinen Mitarbeitern sowie von Paul Mayer in Deutschland, von Victor Henri und seinen Mitarbeitern, von D. Berthelot und H. Gaudechon, Guntz und Minguin, L. Massol in Frankreich und von H. Euler und E. Lindberg in Schweden.

Die ersten in Frankreich ausgeführten Arbeiten, die sich auf das Studium der Wirkung der ultravioletten Strahlen auf verschiedene Kohlenhydrate beziehen, stammen von Victor Henri, H. Bierry und A. Ranc. Im Mai[2]) und im Juli[3]) 1910 veröffentlichten sie die Resultate ihrer Untersuchungen über Saccharose, Gentianose, Raffinose, Manneotetrose, Maltose, Lactose, α- und β-Methylglucoside, Amygdalin und im besonderen über d-Fructose. Sie arbeiteten mit einer Quecksilberquarzlampe Westinghouse Cooper Hewitt von 110 Volt und bei gewöhnlicher Temperatur oder bei 65 bis 70°. Die wässerigen Zuckerlösungen in offenen Krystallisationsschalen oder in Quarzkolben wurden 1 bis 28 Stunden bei dem Abstand von 15 cm von der Lampe belichtet. Es bildeten sich unter diesen Verhältnissen reduzierende Körper. Im Falle der d-Fructose nach 24stündiger Belichtung im Vakuum bei dem Abstand von 5 bis 10 cm von der Lampe wurden auch CO, CO_2 und Formaldehyd nachgewiesen.

In der ein Jahr darauf erschienenen Arbeit[4]) berichteten dieselben Forscher wieder über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Saccharose,

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **27**, 271, 1910; **29**, 179, 1910.

[2]) Henri Bierry und Victor Henri, Compt. rend. de la Soc. de Biol. **68**, 821, 14 mai 1910.

[3]) H. Bierry, V. Henri und Albert Ranc, Compt. rend. **151**, 316, 25 juillet 1910.

[4]) H. Bierry, V. Henri und A. Ranc, Compt. rend. **152**, 1629, 6 juin 1911.

die in Quarzkolben oder in Schalen, entweder allein oder in Gegenwart von Calciumcarbonat belichtet wurde. Die Temperatur war entweder 40° im Vakuum oder 20° an der Luft. Die Versuchsdauer 48 bis 185 Stunden. Es wurde die Hydrolyse der Saccharose und der weitere Abbau der gebildeten Hexosen bis zum Formaldehyd und Kohlenstoffoxyd konstatiert.

Als natürliche Folge dieser Arbeiten sind noch die Untersuchungen derselben Forscher über die Wirkung der ultravioletten Strahlen auf Glycerin[1]) zu nennen. Indem die neutrale Glycerinlösung in Quarzkolben oder in großen Porzellanschalen den zwei parallel gestellten Westinghouse-Quecksilberlampen von 110 Volt, während einigen bis 160 Stunden bei 25° ausgesetzt wurde, haben sie Glycerinaldehyd und andere auch hydrazonbildende, nicht näher charakterisierte Körper isolieren können. In alkalischer Glycerinlösung bei denselben Bedingungen findet die Photosynthese der β-Akrose statt. In Gegenwart von Katalysatoren, wie Fe, Co und Ur-Salzen waren die sonst ganz schwachen Ausbeuten viel günstiger. Bei der Wirkung einer Quecksilberlampe von 500 Volt zersetzt sich das Glycerin bis zum Formaldehyd und anderen aldehydartigen Körpern.

Eine andere Reihe photochemischer Arbeiten in Frankreich, im besonderen über den Abbau von Glucose, Lävulose, Maltose und Saccharose bilden die Untersuchungen von D. Berthelot und H. Gaudechon[2]). Indem sie 10%ige wässerige Lösungen dieser Zuckerarten über Quecksilber oder in Abwesenheit von diesem während 10 Stunden bei dem Abstand von 2 cm von der Quecksilberquarzlampe von 110 Volt und bei der Temperatur von 80 bis 90° belichten ließen, haben sie nur die gasförmigen Produkte der vollständigen Zersetzuug der Zuckermoleküle, nämlich: CO, CH_4, H_2 und CO_2 in verschiedenen Verhältnissen erhalten.

Guntz und Minguin[3]) belichteten Zucker in festem Zustande oder in Lösung bei dem Abstand von 15 cm von der Quecksilberquarzlampe (Westinghouse) von 220 Volt und beobachteten die Bildung von Glucose und von gasförmigen Produkten.

L. Massol[4]) beobachtete nach 25stündiger Belichtung einer durch 3stündiges Erhitzen auf 150° erhaltener und mit Schwefelsäure angesäuerter Stärkelösung (1,75 g Stärke und 1,715 g H_2SO_4 in 1000 ccm Wasser), bei dem Abstand von 10 cm von einer 300 Watt verbrauchender Quecksilberlampe, daß Fehlingsche Lösung reduzierender Zucker, vermutlich Maltose, entsteht und die Stärkelösung die Eigenschaft verliert, Jodlösung zu bläuen.

---

[1]) H. Bierry, V. Henri und A. Ranc, Compt rend. **152**, 535, 27 février 1911. — Victor Henri und A. Ranc, Compt. rend. **154**, 1261, 6 mai 1912.

[2]) Compt. rend. **151**, 395, 1 août 1910.

[3]) Compt. rend. **152**, 372, 13 février 1911.

[4]) Compt. rend. **152**, 902, 27 mars 1911.

In anderer Richtung bewegen sich die photochemischen Untersuchungen in Deutschland auf dem Gebiete der Kohlenhydrate und anderer physiologisch wichtiger Körper. Besonders interessante und sehr wichtige Resultate sind seit dem Jahre 1908 von C. Neuberg[1]) und seinen Mitarbeitern erzielt worden.

Um den natürlichen Bedingungen näher zu kommen, führte Neuberg seine Versuche unter der Wirkung der Sonnenstrahlen aus, indem er wässerige 1 bis 5%ige Lösungen der Kohlenhydrate und anderer Körper in Gegenwart von 0,5 bis 1% Uranyl- oder Eisensalzen in einfachen Glaskolben und -flaschen ins Freie setzte und dem Wechsel der Temperatur und der Bestrahlung, die durch die Aufeinanderfolge von Tag und Nacht und wechselnde Bewölkung verursacht wird, unterwarf. Unter diesen Bedingungen hat Neuberg z. B. bei Glucose oder Rohrzucker nie die Bildung von gasförmigen Zersetzungsprodukten (H_2, CH_4, CO, CO_2) beobachtet, wie es bei den Versuchen mit ultravioletten Strahlen von D. Berthelot und H. Gaudechon oder von H. Euler und E. Lindberg der Fall war. Über die Natur und die Eigenschaften der Reaktionsprodukte der in Gegenwart von Uranylsalz belichteten Stärke äußert sich Neuberg nur folgendermaßen: „Reduzierende Kohlenhydrate, stark positiver Ausfall der typischen Naphthoresorcinreaktion".

Neubergs photochemischen Arbeiten schließt sich die Untersuchung von Paul Mayer[2]) über Zerstörung von Traubenzucker durch Licht an. Bei der 2 bis 7stündigen Wirkung der Strahlen einer Heraeus-Quarzlampe auf 1 bis 5%ige wässerige Traubenzuckerlösungen in Quarz- oder Glaskolben in Gegenwart von wechselnden Mengen von Natriumcarbonat (0,01 bis 0,1%) beobachtete Paul Mayer die Bildung von Aldehyden sowie Glucoson neben Spuren flüchtiger Säuren (Ameisensäure und Buttersäure [?]).

H. Euler und E. Lindberg[3]) haben beim Studium biochemischer Lichtreaktionen u. a. auch Glucose, Mannose und Fructose der Wirkung der ultravioletten Strahlen unterworfen. Als Lichtquelle diente eine Heraeus-Uviollampe von 2,5 Ampere, bei der der Vorschaltwiderstand 50 Ohm und der Abstand der in Quarzgefäßen befindlichen Lösungen von der Lampe 5,5 cm betrug. Unter diesen Bedingungen bildete sich aus 10%iger Glucoselösung eine Säure und hierauf bei weiterer Belichtung ein Gasgemisch, das außer CO_2(15%), CO (37,5%) und H_2 (40,3%) auch CH_4 (0,5%) enthielt.

Aus dieser Zusammenstellung der bisherigen Studien über chemische Umwandlungen der Kohlenhydrate, der Glucose, Fructose und Saccharose im besonderen, ist es leicht ersichtlich, daß eine große Differenz sowohl in der Natur, wie in den

---

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 305, 1908; **27**, 271, 1910; **29**, 279, 1910; **39**, 158, 1912.

[2]) P. Mayer, diese Zeitschr. **32**, 1, 1911.

[3]) Euler und Lindberg, diese Zeitschr. **39**, 410, 1912.

Prozentverhältnissen der gebildeten gasförmigen Zersetzungsprodukte hauptsächlich den verschiedenen Bedingungen der Belichtung zuzuschreiben ist. Der Abstand der Gefäße von der Quecksilberlampe variiert in sehr weiten Grenzen: 2 cm bei Berthelot und Gaudechon, 5,5 cm bei Euler und Lindberg, 5 bis 15 cm bei Bierry, V. Henri und Ranc, 15 cm bei Guntz und Minguin und 10 cm bei Massol. Ähnliche nicht unwichtige Unterschiede sind auch in der Form der angewandten Gefäße, in der Dauer der Belichtung, in der Art der Lampen und somit in der Natur der zur Wirkung gelangenden Strahlen zu verzeichnen.

Indem wir deswegen unsere Untersuchungen über den Abbau der Stärke durch ultraviolette Strahlen unternahmen, haben wir die Versuchsbedingungen so zu wählen gesucht, daß die belichteten Stärkelösungen durch eine Rotationsbewegung um die Lampe herum sich immer in einem konstanten Abstand von der Lampe befanden und die Temperatur nicht zu hoch und immer gleichmäßig blieb. Außerdem haben wir in beliebigen Zeitintervallen durch die Anwendung der physikalischen Methoden den Verlauf der Reaktion verfolgen können. Die Messungen der elektrischen Leitfähigkeit und der elektromotorischen Kraft resp. der reellen Wasserstoffionenkonzentration erlaubten uns, die Reaktion in dem Momente zu unterbrechen, wo die verlängerte Wirkung der ultravioletten Strahlen ohne Zweifel eine zu weit gehende Zersetzung der Stärkemoleküle, bis zu den gasförmigen Produkten, verursachen würde. Bei dieser Versuchsweise haben wir uns überzeugen können, daß die Wirkung der ultravioletten Strahlen leicht zu kontrollieren ist und große Analogie mit der Wirkung der Sonnenstrahlen bietet, wie in den von C. Neuberg in Gegenwert von Uranyl- und Eisensalzen untersuchten Fällen. Trotz der großen Kompliziertheit der Stärkemoleküle ist es uns gelungen, unter vielen Umwandlungsprodukten diejenigen festzustellen, die auch in den Pflanzen vorkommen und deren Ursprung vielleicht dem graduellen Abbau der Stärke zugeschrieben werden muß. Wir haben nachgewiesen: Dextrine, Pentosen, reduzierende Kohlenhydrate (Glucose? Glucoson?), Carbonylsäuren und Formaldehyd. Man darf wohl annehmen, daß noch andere Säuren und aldehyd- und ketonartige Produkte mit

vorhanden sind, deren Natur vielleicht durch weitere Untersuchungen, die von uns fortgesetzt werden, zu charakterisieren gelingen wird.

Experimenteller Teil.

Da wir die Absicht hatten, auch den Einfluß der verschiedenen Katalysatoren auf den Abbau der Stärke durch ultraviolette Strahlen zu untersuchen, haben wir uns vorgenommen, zunächst die salzfreie Stärke der Belichtung zu unterwerfen. Um den Gebrauch der üblichen zur Reinigung der Stärke angewandten Reagenzien zu vermeiden, haben wir Kartoffelstärke dem von G. Malfitano und Frl. Moschkoff angegebenen Reinigungsverfahren unterworfen. Durch einmaliges Erhitzen der Stärkelösung im Autoklaven auf 130°, darauf folgendes Gefrieren auf —10°, Abschleudern der ausgeschiedenen Stärke und dann durch wiederholtes Auflösen und Erwärmen auf dem Wasserbade und Gefrieren wie oben, haben wir eine aschen- und dextrinfreie Stärke erhalten können. Da die auf diese Weise gereinigte Stärke sich schwer im Wasser löst, haben wir zu unseren Versuchen nur 0,38 bis 0,40%ige Lösungen benutzt. Das spezifische Drehungsvermögen wurde gefunden: 217° 57′ und 217° 33′ im Mittel $[\alpha]^{D}_{20°} = 217° \, 45'$, die spezifische Leitfähigkeit war nur 10 bis 12×10^{-6} bei 25°.

Als Lichtquelle diente eine Quecksilberquarzlampe von Westinghouse Cooper Hewitt, deren leuchtende Röhre 60 mm lang war. Diese war an einen elektrischen Strom von 110 Volt angesetzt und brannte mit 75 Volt und 3,4 Ampère. Zuweilen wurde auch eine 50mal stärkere Lampe benutzt; diese letztere ist eine große U-förmige Quecksilberquarzlampe, die bei 500 Volt brennt und von V. Henri, Helbronner und v. Recklinghausen konstruiert worden ist[2]).

Die Versuchsanordnung war immer die folgende: Mehrere 10 ccm Stärkelösung enthaltende Quarzröhren von 10 cm Länge und 1,5 cm Durchmesser wurden in horizontaler Lage mit Hilfe eines elektrischen Motors in eine Rotationsbewegung um die Lampe herum, bei einem Abstand von 8,5 cm von der Lampe, geführt. Die Temperatur der belichteten Lösungen hielt sich

---

[1]) Compt. rend. **151**, 817, 1910.

[2]) Compt. rend. **154**, 1912.

in den Grenzen von 45 bis 47°. Die Dauer der Belichtung variierte von 1 bis 255 Stunden.

Unter den ersten Umwandlungsprodukten der Stärke befinden sich auch die Säuren. Wir haben die Bildung dieser Körper nach zwei Methoden verfolgt: durch elektrische Leitfähigkeit und durch Messung der elektromotorischen Kraft. Die nachfolgende Tabelle und Kurve zeigen uns, wie die elektrische Leitfähigkeit im Anfang ziemlich rasch steigt, dann sich verlangsamt und nach 115 Stunden schon konstant bleibt:

Dauer der Belichtung in Stunden	Spez. elektrische Leitfähigkeit bei 25°
0	10×10^{-6}
1	38×10^{-6}
2	54×10^{-6}
6	111×10^{-6}
22	166×10^{-6}
48	195×10^{-6}
70	240×10^{-6}
115	257×10^{-6}
215	257×10^{-6}
255	257×10^{-6}

Fig. 1. Die Abszissenachse zeigt die Dauer der Belichtung in Stunden und die Ordinatenachse die spezifische elektrische Leitfähigkeit.

Gleichzeitig, wie gesagt, wurde auch die elektromotorische Kraft der belichteten Lösungen nach der auf dem Poggen-

dorffschen Prinzip der „Kompensation" fußenden Methode unter Anwendung einer Kalomelnormal- und einer Wasserstoffelektrode gemessen. Aus den erhaltenen elektromotorischen Kräften wurden die reellen Wasserstoffionenkonzentrationen berechnet. Wie man aus der folgenden Tabelle und Kurve ersieht, steigt die reelle Wasserstoffionenkonzentration zunächst ganz regelmäßig und bleibt nach 115 Stunden konstant.

Dauer der Belichtung in Stunden	Reelle Wasserstoffionenkonzentration
0	$10^{-5,34}$
1	$10^{-4,96}$
2	$10^{-4,90}$
22	$10^{-3,64}$
48	$10^{-3,28}$
70	$10^{-3,15}$
115	$10^{-2,93}$
215	$10^{-2,93}$
255	$10^{-2,93}$

Fig. 2. Die Abszissenachse zeigt die Belichtungsdauer in Stunden und die Ordinatenachse die reelle Wasserstoffionenkonzentration.

Zur leichteren Orientierung möchten wir beispielsweise angeben, daß die nach 255 Stunden gefundene spezifische Leitfähigkeit 257×10^{-6} und die reelle H-Ionenkonzentration $10^{-2,93}$ ungefähr einer $^1/_{30}$ normalen Essigsäurelösung oder einer $^1/_{120}$ normalen Ameisensäurelösung entsprechen.

Es ist sehr interessant zu konstatieren, daß wir absolut dieselbe Leitfähigkeit und reelle Wasserstoffionenkonzentration gefunden haben, als wir unsere Stärkelösung in den Quarz-

kolben der Wirkung einer Quecksilberquarzlampe von 500 Volt bei einem Abstand von 10 cm während nur 6 Stunden aussetzten. Die Temperatur der Lösung stieg dabei auf etwa 70°.

Das spezifische Drehungsvermögen der belichteten Lösungen wurde immer kleiner gefunden als dasjenige der ursprünglichen.

Die Reaktion ist deutlich sauer auf Lackmuspapier. Die Lösung riecht stark nach Formaldehyd, dessen Anwesenheit durch die Reduktion der ammoniak-alkalischen Silberlösung und durch die Rosafärbung der fuchsinschwefligen Säure bestätigt wurde. Die sehr empfindliche Reaktion von Lewin auf Acetaldehyd mit Piperidin und Nitroprussidnatrium war negativ. Die Reaktion mit Jodlösung zeigte die Anwesenheit von Dextrinen. Nach Abdestillieren von Formaldehyd im Vakuum wird die Fehlingsche Lösung beim Erwärmen reduziert. Die Seliwanoffsche Reaktion auf Lävulose ist negativ. Mit essigsaurem Phenylhydrazin erhält man schon in der Kälte nach längerem Stehen einen braungelben krystallinischen Niederschlag, jedoch in zu kleiner Menge, um in reinem Zustande näher charakterisiert zu werden. Da aber die Barfoedsche Reaktion mit essigsaurem Kupferacetat positiv ist, glauben wir aus allen diesen Reaktionen auf die Anwesenheit von Glucose resp. Glucoson schließen zu dürfen.

Zu den interessantesten von uns konstatierten Abbauprodukten der Stärke gehören Pentosen und Carbonylsäuren. Beim Erwärmen mit Phloroglucin und Salzsäure erhält man eine kirschrote Färbung, die mit Amylalkohol extrahiert einen Absorptionsstreifen zwischen *D* und *E* zeigt. Mit Orcin beobachtet man einen Absorptionsstreifen zwischen *C* und *D*. Da aber die Phloroglucin- und Orcinproben auch auf Carbonylsäuren deuten können, haben wir unsere belichtete Stärkelösung noch mit Naphthoresorcin und Salzsäure erwärmt. Der erhaltene Farbstoff löste sich sehr wenig mit violettroter Farbe in Äther und ging gar nicht in Benzol[1]) über, was die Anwesenheit von Pentosen bestätigt. Hier sei erwähnt, daß C. Neuberg bei der Belichtung von Glucose sowohl in Gegenwart von Uranyl- wie Eisensalzen auch eine positive Pentosenreaktion mit Orcin beobachtet hat[2]).

---

[1]) C. Neuberg u. S. Saneyoshi, diese Zeitschr. **36**, 56, 1911.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. **13**, 139, 1908.

Endlich haben wir auf den Rat von Herrn Dr. Victor Henri und unter seiner freundlichen Mitwirkung die Absorptionsspektra der ursprünglichen und belichteten Stärkelösung mit einem Quarzspektograph photographiert, indem wir mit Eisen-Cadmiumfunken als Lichtquelle die Expositionsdauer und die Dicke der durchstrahlten Schicht variieren ließen. Wir haben die Absorption für verschiedene Gruppen der Linien im Ultraviolett quantitativ bestimmt nach der Methode von Victor Henri, durch Vergleich der Intensität der erhaltenen Linien nach dem Durchgang durch verschiedene Schichtendicken. Bei der Berechnung wurde die Schwarzschildsche Formel $\frac{J}{J'} = \left(\frac{t'}{t}\right)^n$, wo $n = 0{,}9$ ist, benutzt. Der Absorptionskoeffizient K ist nach der Formel $J' = J \cdot 10^{-Kd}$ berechnet, wo d die Dicke der durchstrahlten Schicht in Zentimetern bedeutet.

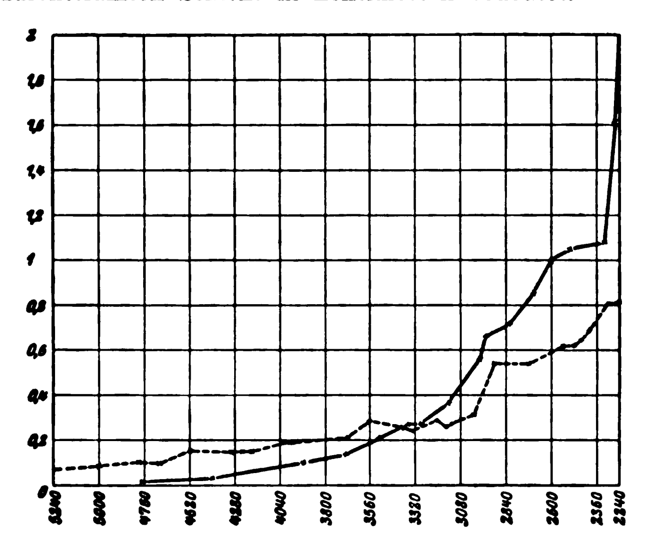


Fig. 3. Auf der Abszissenachse sind die Wellenlängen und auf der Ordinatenachse die Absorptionskoeffizienten eingetragen.

Die ausgezogene Kurve entspricht der belichteten und die punktierte der unbelichteten Stärkelösung. Man ersieht aus dieser letzteren, daß für die unbelichtete Lösung die Absorption für die Wellenlängen von 5000 bis 3140 Ångström-Einheiten wenig variiert; für kürzere Wellenlängen steigt der Absorptionskoeffizient von 0,25 bis auf 0,81 bei 2240 Ångström-Einheiten.

Für die belichtete Lösung ist bei den größeren Wellenlängen, bis etwa λ 3400, die Absorption geringer als für die unbelichtete Lösung. Diese Differenz ist wahrscheinlich dadurch bewirkt, daß die unbelichtete Lösung schwach opalescent ist, während die belichtete ganz durchsichtig ist. Für kürzere Wellenlängen zwischen λ 3400 bis λ 2350 steigt der Absorptionskoeffizient ziemlich schnell bis zu 1,08 bei λ 2350. Von da ab für ganz kurze Wellenlängen steigt der Absorptionskoeffizient ganz besonders rasch, so daß er schon bei λ 2240 den Wert 2,0 erreicht.

Es bilden sich also Körper, die die kürzesten ultravioletten Strahlen sehr stark absorbieren.

Die in Gemeinschaft mit Herrn Victor Henri ausgeführten spektrographischen Untersuchungen haben uns gezeigt, daß weder Formaldehyd, noch Methyl- oder Äthylalkohol, noch Glycerin, noch Glucose, noch Ameisensäure oder Essigsäure bei den benutzten Konzentrationen und Schichtendicken fähig sind, die ultravioletten Strahlen so stark zu absorbieren.

Es steht also die beobachtete Absorption im Zusammenhange mit der Bildung anderer noch zu bestimmenden Körper.

Beiträge zur Muskelchemie.

II. Über den Gehalt der glatten und quergestreiften Säugetiermuskeln an organischem und anorganischem Phosphor.

Von

A. Costantino.

(Aus dem physiologischen Institut der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 4. Juni 1912.)

1. Einleitung.

In einer meiner früheren Arbeiten[1]) habe ich mich mit dem Kalium-, Natrium- und Chlorgehalt von quergestreiften und glatten Muskeln verschiedener Tiere beschäftigt, wobei ich auf die Verschiedenheiten hinwies, die in dieser Hinsicht zwischen den beiden Arten von Muskelgewebe bestehen. Gemäß dem Plan systematischer Untersuchungen über die Chemie und Physiologie der Muskeln, mit dessen Ausführung wir jetzt in unserem Institut beschäftigt sind, habe ich mir vorgenommen, die hauptsächlichsten Verbindungsformen, in denen der Phosphor sich in den quergestreiften nnd glatten Muskeln der Säugetiere vorfindet, zu studieren, wobei ich das Ziel verfolgte, auch die Beziehungen zwischen einigen basischen und sauren Gruppen in der Muskelsubstanz festzustellen.

Bestimmungen des Phosphorgehaltes der quergestreiften und glatten Muskeln[2]) und anderer tierischer und pflanzlicher Gewebe und Organe sind schon reichlich in der Literatur zu finden, namentlich in der des letzten Dezenniums; das beweist, welches Interesse diese Frage erregt. Aber in keinem Falle wurden die Untersuchungen an quergestreiften und glatten Muskeln von Tieren derselben Art ausgeführt, was m. E. un-

[1]) A. Costantino, I. Diese Zeitschr. **37**, 552, 1911.

[2]) Tadasu Saiti, Journ. of Biolog. Chem. **4**, 483, 1908.

erläßlich ist, wenn man einen genauen Vergleich zwischen den beiden Muskelgeweben hinsichtlich des P-Gehalts und seiner verschiedenen Verbindungsformen anstellen will.

Außerdem wurden die Untersuchungen von verschiedenen Autoren mit verschiedenen Methoden gemacht, die nicht immer der Kritik standhalten.

Nur auf einige neuere Arbeiten sei hingewiesen, die mit zuverlässigeren Methoden unternommen wurden. An erster Stelle steht die Arbeit von E. B. Hart und W. H. Andrews[1]), in der sich eine Kritik der vorhergehenden, die Bestimmung der verschiedenen Verbindungen des Phosphors betreffenden Arbeiten vorfindet. Bemerkenswert ist der von diesen Autoren hervorgehobene Umstand, daß ein Teil des anorganischen Phosphors sich auf Kosten des organischen Phosphors während der analytischen Prozesse bilden soll. Die früheren Arbeiten, auf die ich hinweise, sind: die von A. Kossel[2]) (Extraktion des Muskelbreis mit einem Gemisch von Tannin und 5 %igem HCl, um die Phosphorproteide zu entfernen), die von J. Katz[3]) (Extraktion mit kochendem Wasser, wobei der Gesamtphosphor des Extraktes als anorganischer Phosphor betrachtet wird), die von J. J. R. Macleod[4]) (Extraktion von Muskeln, die vorher bei 100° getrocknet waren, mit Wasser von 50 bis 60°; das Extrakt wird zum Kochen gebracht, um die eventuell in Lösung gegangenen Muskelproteine zu koagulieren), die von H. L. Percival[5]) (Extrahierung in der Kälte mit [0,5 %igem] HCl angesäuertem Wasser, wobei der Phosphor des Extraktes als anorganischer Phosphor betrachtet wird), die von Iwanow[6]) (Extrahierung im Wasserbad mit 1 %iger Essigsäure) und die von Zaleski[7]) (wie Iwanow, in der jedoch die schädliche Einwirkung der in der Molybdänlösung enthaltenen HNO_3 auf die löslichen Nucleine in Betracht gezogen wird).

Was die von Hart und Andrews befolgte Methode anbelangt (Extraktion in der Kälte und Bestimmung des anorganischen Phosphors in Anwesenheit von Eiweißstoffen), so wurde sie von Emmet und Grindley[8]) einer Kritik unterzogen (über die durch Gegenwart von Eiweißstoffen bedingten Schwankungen des anorganischen Phosphors).

In jüngster Zeit wurden Arbeiten zu dem Zwecke unternommen, die Mängel, die den obenerwähnten Methoden anhaften, zu beseitigen.

---

[1]) E. B. Hart and W. H. Andrews, Amer. chem. Journ. 30, 471, 1903.
[2]) A. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 9, 1883.
[3]) J. Katz, Arch. f. d. ges. Physiol. 63, 1, 1896.
[4]) J. J. R. Macleod, Zeitschr. f. physiol. Chem. 28, 535, 1899.
[5]) H. L. Percival, Compt. rend. 125, 1004, 1902.
[6]) Iwanow, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 20, Heft 7, 1902.
[7]) Zaleski, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 20, Heft 7, 1902.
[8]) Emmet und H. S. Grindley, Journ. Amer. Chem. Soc. 28, 26, 1906.

Derartige Arbeiten sind die von Emmet und Grindley (l. c.), Forbes[1]), Siegfried und Singewald[2]), von H. S. Grindley und E. L. Ross[3]), (in der die Methoden der obenerwähnten Autoren vergleichend angeführt werden), und die von G. K. Francis und P. F. Trowbridge[4]). Endlich will ich noch erinnern an die Arbeiten von E. Schulze und N. Castoro[5]), von A. Stutzer[6]) und an die Beobachtungen von Fingerling und A. Hecking[7]).

Aus der Gesamtheit der bis jetzt erhaltenen Resultate kann die allgemeine Schlußfolgerung gezogen werden, daß, während anfangs das Problem der Trennung des organischen Phosphors vom anorganischen leicht lösbar zu sein schien, heutzutage dagegen anerkannt werden muß, daß es von sehr komplizierter Natur und noch weit von seiner endgültigen Lösung entfernt ist. Durch Untersuchungen an pflanzlichen Geweben wurde in jüngster Zeit nachgewiesen, daß noch andere Formen in organischer Bindung vorhandenen Phosphors existieren, d. h. organische Verbindungen des Phosphors, die leicht in Wasser löslich und daher leicht als anorganischer Phosphor zu bestimmen sind. In dieser Hinsicht kann ich die Arbeiten von Posternack[8]), Neuberg[9]), Susuki, Yoshimura und Takaishi[10]) über das Phytin anführen, sowie solche über Glycerinphosphorsäure und noch andere über lösliche organische Phosphorverbindungen, die chemisch noch nicht recht bekannt sind, wie z. B. über das Siegfriedsche Nucleon[11]).

Bemerkenswert ist übrigens der Umstand, daß trotz der

---

[1]) Forbes, Ohio Agr. Exp. sta. Bull. 215, 484, 1910.

[2]) Siegfried und Singewald, Zeitschr. f. Nahr- u. Genußm. 10, 521, 1905.

[3]) H. S. Grindley and E. L. Ross, Journ. of Biolog. Chem. 8, 483, 1910 bis 1911.

[4]) C. K. Francis and P. F. Trowbridge, Journ. of Biolog. Chem. 8, 81, 1910; id. 7, 481, 1910.

[5]) E. Schulze und N. Castoro, Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 476, 1904.

[6]) A. Stutzer, diese Zeitschr. 37, 452, 1911.

[7]) G. Fingerling und A. Hecking, diese Zeitschr. 37, 452, 1911.

[8]) Posternack, Compt. rend. 137, 140.

[9]) Neuberg, diese Zeitschr. 9, 557.

[10]) Bull. Coll. Ayr. Tokyo 7.

[11]) Siegfried, Ber. d. Königl. sächs. Ges. d. Wiss. Leipzig, Math.-phys. Klasse 1893; Über Phosphorfleischsäure, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 28, 515, 1895.

Verschiedenheit der angewendeten Methoden die von den verschiedenen Autoren erhaltenen Resultate wenigstens in einem Punkte übereinstimmen, nämlich darin, daß in den quergestreiften Muskeln stets der anorganische Phosphor vorwiegt, eine Tatsache, die, wie man sehen wird, auch durch meine Untersuchungen bestätigt wird. Dies ist z. B. aus den vor kurzem publizierten Daten von H. S. Grindley und E. L. Ross (l. c.) zu entnehmen, die unter Anwendung verschiedener Methoden erhalten wurden:

a) Intercostalmuskeln vom Rind.

		Anorgan. Phosphor in % des Gesamtphosphors
Methode	Emmet-Grindley	93,1
„	Forbes	89,7
„	Siegfried-Singewald, modifiziert	89,7

b) Muskeln „Beef Round".

Methode	Emmet-Grindley	70,5
„	Forbes	73,2
„	Siegfried-Singewald, modifiziert	63,8

2. Untersuchungsmethode.

Der von jedem anderen Gewebe (Bindegewebe, Fett usw.) befreite Muskelbrei wurde bei 70 bis 80° getrocknet und in den Zustand eines homogenen Pulvers gebracht. Von diesem Pulver trocknete ich eine Probe bei 110°; eine andere darauf zur Bestimmung der Lipoidstoffe, wobei als Extraktionsmittel Äther und Alkohol verwendet wurden. Die Extraktion wurde im Soxhletschen Apparat ausgeführt; die Dauer der Extraktion betrug 10 Stunden für den Äther, 17 Stunden für den Alkohol.

Phosphatid-Phosphor.

Das zur Trockne gebrachte Ätheralkoholextrakt wurde auf feuchtem Wege nach der Neumannschen Methode verascht und der Phosphor als Magnesiumpyrophosphat bestimmt. In diesem Falle ging die Verbrennung rasch von statten und es genügten wenige Kubikzentimeter Säuregemisch, um sie zu Ende zu führen. Die saure Flüssigkeit wurde mit Ammoniak neutralisiert und dann in bekannter Weise weiter verarbeitet.

Anorganischer Phosphor.

Das ganze behufs Extraktion der Lipoide in die Hülsen gebrachte und vom Äther und Alkohol bei niedriger Temperatur befreite Pulver wurde in einen Kolben getan und mit 20 ccm Alkohol und einem Gemisch aus 20 ccm (10%) HCl und 160 ccm Wasser versetzt. Das mit einem Glasstopfen verschlossene Gefäß wurde andauernd bei gewöhnlicher Temperatur während einer Dauer von 3 Stunden bewegt. Die 1% Salzsäure enthaltende Flüssigkeit wurde durch ein Faltenfilter gegossen und 50 bis 100 ccm des Filtrates wurden der Analyse unterworfen. Dieser Flüssigkeit setzte ich 25 ccm (ca. 10%) Bariumnitratlösung zu und so viel Ammoniak, als genügte, um der Flüssigkeit eine mäßig alkalische Reaktion zu geben. Der Phosphatniederschlag wurde mit einem kleinen Quantum einer Flüssigkeit gewaschen, die 1 mg $BaNO_3$ und 1 mg NH_3 in 1 l enthielt, und auf einem von Aschenbestandteilen freien Doppelfilter aufgefangen. Nach dem Auswaschen entfernte ich das obere Filter, das den Niederschlag enthielt, und brachte es in ein verdünnte HNO_3 enthaltendes Becherglas, indem ich das Filtrierpapier sorgfältig zerteilte. Auf diese Weise wurden die Erdalkaliphosphate aufgelöst und dann durch das im Trichter gebliebene zweite Filter filtriert. Es wurde reichlich mit Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wurde mit Ammoniummolybdat und dann mit Magnesiamischung nach Fresenius behandelt und der Phosphor als Magnesiumpyrophosphat bestimmt. Wie man sieht, ist die von mir zur Bestimmung des anorganischen Phosphors befolgte Methode im wesentlichen die nämliche wie die von Stutzer (Modifikation der Schulze-Castoroschen) für die pflanzlichen Gewebe, die nur in einigen nebensächlichen Einzelheiten modifiziert wurde.

Gesamtphosphor.

2 bis 3 g trockenes Pulver wurden auf feuchtem Wege nach der Neumannschen Methode verascht und der Phosphor wie beim Phosphatidphosphor mittels Magnesiamischung bestimmt.

Organischer Phosphor.

Die Werte für den organischen Phosphor erhielt ich aus der Differenz zwischen den Werten des Gesamtphosphors und denen des anorganischen Phosphors.

3. Analytische Belege.

A. Ochsenfleisch.

a) Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert, 10,6639 g frisches Fleisch gaben 2,3703 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110° bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 22,22
Wasser „ 100 „ „ „ = 77,88

Gesamte Phosphormenge: 1,7235 g trockenes Fleisch lieferten 0,0469 g $Mg_2P_2O_7$

= 1,6838 ‰ P
= 3,8566 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,7575 % P
= 1,7349 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 9,433 g trockenes Fleisch lieferten 0,2076 g $Mg_2P_2O_7$

= 1,3618 ‰ P
= 3,1195 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,6126 % P
= 1,4031 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor aus den Phosphatiden: 9,433 g trockenes Fleisch lieferten 0,0421 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,2761 ‰ P
= 0,6325 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,1242 % P
= 0,2845 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

= 0,3220 ‰ P
= 0,7371 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,1449 % P
= 0,3318 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

= 0,0459 ‰ P
= 0,1046 ‰ P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,0207 % P
= 0,0473 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

b) Herzmuskel. Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert. 8,4542 g frisches Fleisch gaben 1,6281 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110° bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 19,26
Wasser „ 100 „ „ „ = 80,74

Gesamte Phosphormenge: 1,9848 g trockenes Fleisch lieferten 0,0771 g $Mg_2P_2O_7$

= 2,0826 ‰ P
= 4,770 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,0814 % P
= 2,4766 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 13,642 g trockenes Fleisch lieferten 0,2116 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,8316 ‰ P
= 1,9047 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,4327 % P
= 0,9889 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

= 1,2510 ‰ P
= 2,8653 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,6487 % P
= 1,4877 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

c) Glatte Muskeln (Retractor penis). Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert.

7,6840 g frisches Fleisch gaben 1,4708 g Trockensubstanz.
Feste Stoffe (110° bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 19,15
Wasser „ 100 „ „ „ = 80,85

Gesamte Phosphormenge: 2,0375 g trockenes Fleisch lieferten 0,0415 g $Mg_2P_2O_7$

= 1,0863 ‰ P
= 2,488 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,5670 % P
= 1,2986 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 10,058 g trockenes Fleisch lieferten 0,0836 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,4432 ‰ P
= 1,015 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,2313 % P
= 0,5299 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

= 0,6431 ‰ P
= 1,473 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,3357 % P
= 0,7687 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

d) Glatte Muskeln (Magen).

Feste Stoffe (110° bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 20,19
Wasser „ 100 „ „ „ = 79,81

Gesamte Phosphormenge: 2,0242 g trockenes Fleisch lieferten 0,0437 g $Mg_2P_2O_7$

= 1,2708 ‰ P
= 2,9106 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,601 % P
= 1,376 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 4,938 g trockenes Fleisch lieferten 0,0558 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0,6658\ ^0/_{00}$ P
$= 1,525\ ^0/_{00}\ P_2O_5$ } bezogen auf frisches Fleisch.
$= 0,3148\ ^0/_0$ P
$= 0,7211\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphatidphosphor: 4,933 g trockenes Fleisch lieferten 0,0269 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0,3209\ ^0/_{00}$ P
$= 0,7351\ ^0/_{00}\ P_2O_5$ } bezogen auf frisches Fleisch.
$= 0,1518\ ^0/_0$ P
$= 0,3477\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

$= 0,6050\ ^0/_{00}$ P
$= 1,3856\ ^0/_{00}\ P_2O_5$ } bezogen auf frisches Fleisch.
$= 0,2862\ ^0/_0$ P
$= 0,6549\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

$= 0,2841\ ^0/_{00}$ P
$= 0,6505\ ^0/_{00}\ P_2O_5$ } bezogen auf frisches Fleisch.
$= 0,1344\ ^0/_0$ P
$= 0,3072\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

B. Ochsenfleisch.

a) Quergestreifte Muskeln.

Gesamte Phosphormenge: 2,022 g trockenes Fleisch lieferten 0,0472 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0,6498\ ^0/_0$ P
$= 1,4986\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 11,29 g trockenes Fleisch lieferten 0,2140 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0,5287\ ^0/_0$ P
$= 1,208\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor aus den Phosphatiden: 11,29 g trockenes Fleisch lieferten 0,0430 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0,1059\ ^0/_0$ P
$= 0,2427\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

$= 0,1211\ ^0/_0$ P
$= 0,2906\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

$= 0,0152\ ^0/_0$ P
$= 0,0479\ ^0/_0\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

b) Herzmuskel.

Gesamte Phosphormenge: 2,6240 g trockenes Fleisch lieferten 0,0984 g $Mg_2P_2O_7$

= 2,0105 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 4,605 ‰ P_2O_5 }
= 1,043 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 2,391 % P_2O_5 }

Phosphor in anorganischer Bindung: 16,837 g trockenes Fleisch lieferten 0,2390 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,7610 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,743 ‰ P_2O_5 }
= 0,3951 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,9051 % P_2O_5 }

Phosphatidphosphor: 5,9191 g trockenes Fleisch lieferten 0,0937 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,8487 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,944 ‰ P_2O_5 }
= 0,4407 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 1,0094 % P_2O_5 }

Phosphor in organischer Bindung:

= 1,2495 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 2,862 ‰ P_2O_5 }
= 0,6479 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 1,486 % P_2O_5 }

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

= 0,4008 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 0,918 ‰ P_2O_5 }
= 0,2072 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4766 % P_2O_5 }

c) Glatte Muskeln (Retractor penis).

Gesamte Phosphormenge: 2,79 g trockenes Fleisch lieferten 0,0593 g $Mg_2P_2O_7$

= 1,1333 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 2,596 ‰ P_2O_5 }
= 0,5917 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 1,355 % P_2O_5 }

Phosphor in anorganischer Bindung: 10,863 g trockenes Fleisch lieferten 0,1108 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,5439 ‰ P } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,245 ‰ P_2O_5 }
= 0,2839 % P } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,6503 % P_2O_5 }

Phosphor aus den Phosphatiden: 6,404 g trockenes Fleisch lieferten 0,0331 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,2756 ‰ P
= 0,6312 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.

= 0,1439 % P
= 0,3296 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

= 0,5894 ‰ P
= 1,351 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.

= 0,3078 % P
= 0,7047 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

= 0,3138 ‰ P
= 0,7198 ‰ P_2O_5 } bezogen auf frisches Fleisch.

= 0,1639 % P
= 0,3751 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

d) Glatte Muskeln (Magen).

Gesamte Phosphormenge: 4,4484 g trockenes Fleisch lieferten 0,0919 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,5751 % P
= 1,317 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

C. Kuhfleisch.

a) Glatte Muskeln (Uterus).

Dem Uterus wurde die Schleimhaut nicht entzogen, sondern es wurde nur das Bindegewebe und das Fett entfernt. Das Tier war noch nicht trächtig gewesen.

Gesamte Phosphormenge: 2,6472 g trockenes Fleisch lieferten 0,0697 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,7329 % P
= 1,679 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 7,823 g trockenes Fleisch lieferten 0,0616 g $Mg_2P_2O_7$]

= 0,2142 % P
= 0,5020 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphatidphosphor: 7,823 g trockenes Fleisch lieferten 0,0585 g $Mg_2P_2O_7$

= 0,2081 % P
= 0,4768 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

= 0,5187 % P
= 1,177 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

= 0,3106 % P
= 0,7002 % P_2O_5 } bezogen auf trockenes Fleisch.

Tabelle I.

Phosphor auf 100 Teile trockenes Fleisch	Ochsenfleisch Quergestr. Muskeln 1	2	Ochsenfleisch Herzmuskeln 1	2	Glatte Muskeln: Ochs (Retr. penis) 1	2	Ochs (Magen) 1	2	Kuh (Uterus) 1	2	Bemerkungen
Gesamte Phosphormenge . . .	0,7575	0,6498	1,0814	1,0430	0,5670	0,5917	0,6010	0,5751	0,7329	0,8449	Uterus 1 (das Tier war noch nicht schwanger)
Phosphor in anorgan. Bindung	0,6126	0,5287	0,4327	0,3951	0,2313	0,2839	0,3148	—	0,2142	0,3353	
Phosphor in organischer Bindung	0,1449	0,1211	0,6487	0,6479	0,3357	0,3078	0,2862	—	0,5187	0,5096	
Phosphatidphosphor	0,1242	0,1059	—	0,4407	—	0,1439	0,1518	—	0,2081	0,1644	
Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor . . .	0,0207	0,0152	—	0,2072	—	0,1639	0,1344	—	0,3106	0,3452	

Tabelle II.

P_2O_5 auf 100 Teile trockenes Fleisch	Ochsenfleisch Quergestr. Muskeln 1	2	Ochsenfleisch Herzmuskeln 1	2	Glatte Muskeln: Ochs (Retr. penis) 1	2	Ochs (Magen) 1	2	Kuh (Uterus) 1	2	Bemerkungen
Gesamte Phosphormenge . . .	1,7349	1,4986	2,4766	2,3910	1,2986	1,3550	1,3760	1,3170	1,6790	1,9350	Uterus 1 (das Tier war noch nicht schwanger)
Phosphor in anorgan. Bindung	1,4031	1,2080	0,9889	0,9051	0,5299	0,6503	0,7211	—	0,5020	0,7680	
Phosphor in organischer Bindung	0,3318	0,2906	1,4877	1,4860	0,7687	0,7047	0,6549	—	1,1770	1,1670	
Phosphatidphosphor	0,2845	0,2427	—	0,0094	—	0,3296	0,3477	—	0,4768	0,3767	
Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor . . .	0,0473	0,0479	—	0,4766	—	0,3751	0,3072	—	0,7002	0,7903	

b) Glatte Muskeln (Uterus).

Dem Uterus wurde die Schleimhaut nicht entzogen, sondern es wurde nur das Bindegewebe und das Fett entfernt. Das Tier hatte mehrmals geworfen.

Gesamte Phosphormenge: 3,799 g trockenes Fleisch lieferten 0,1153 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0{,}8449\ \%\ P$
$= 1{,}935\ \%\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in anorganischer Bindung: 15,64 g trockenes Fleisch lieferten 0,1884 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0{,}3353\ \%\ P$
$= 0{,}7680\ \%\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphatidphosphor: 15,64 g trockenes Fleisch lieferten 0,0924 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0{,}1644\ \%\ P$
$= 0{,}3767\ \%\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung:

$= 0{,}5096\ \%\ P$
$= 1{,}1670\ \%\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Phosphor in organischer Bindung — Phosphatidphosphor:

$= 0{,}3452\ \%\ P$
$= 0{,}7903\ \%\ P_2O_5$ } bezogen auf trockenes Fleisch.

Schlußfolgerungen.

1. Der Gehalt an Gesamtphosphor zeigt keine meßbaren Unterschiede zwischen glatten und quergestreiften Säugetiermuskeln. Die Herzmuskulatur dagegen weicht davon ab und zeigt einen höheren Gehalt an Gesamtphosphor.

2. Was den Gehalt an anorganischem Phosphor anbelangt, so besteht zwischen glatten und quergestreiften Muskeln ein bedeutender Unterschied. Bei den ersteren ist der Wert für den organischen Phosphor ungefähr gleich dem Werte des anorganischen Phosphors oder übertrifft ihn, bei den letzteren übertrifft der anorganische Phosphor den Wert des organischen Phosphors bedeutend. Die Herzmuskulatur verhält sich wie die glatte Muskulatur.

3. Von dem organischen Phosphor herrscht bei der glatten und Herzmuskulatur derjenige überwiegend vor, der die Phosphatide betrifft. Die glatte Muskulatur zeigt einen Wert für den Phosphatidphosphor, der ungefähr die Hälfte des organischen Gesamtphosphors und im besonderen Falle des Kuhuterus ca. $^1/_3$ des organischen Phosphors ausmacht.

Ich resümiere in der nebenstehenden Tabelle diese Beziehungen zwischen den verschiedenen Kombinationsformen des Phosphors.

4. Wenn wir jetzt die Beziehungen zwischen einigen Gruppen der quergestreiften und glatten Muskulatur betrachten, so müssen wir eine bemerkenswerte Tatsache konstatieren. Vor allem ist vorauszuschicken, daß eine enge Beziehung der Äquivalenz zwischen basischen und sauren Gruppen strenggenommen nicht festgestellt werden kann. Höchstens läßt sich die Hypothese aufstellen, daß das Chlor sich ganz in anorganischer Bindung, und daß der Phosphor, soweit er in anorganischer Bindung vorhanden ist, in Gestalt eines normalen Salzes, als Phosphat, sich vorfindet. Nachdem ich die für ein solches Studium am wenigsten günstigen Bedingungen hergestellt hatte, versuchte ich, Beziehungen zwischen den Gewichtsmengen Chlor und Phosphor einerseits, Kalium und Natrium andererseits herzustellen. Dabei ist angenommen (dazu berechtigen die experimentellen Daten), daß der in den Muskeln enthaltene Schwefel organischer Schwefel sei.

Die Beziehungen, die ich auf Grund der in einer früheren Mitteilung angegebenen und der in dieser Mitteilung erhaltenen Werte fand, habe ich auf den folgenden Tabellen verzeichnet.

Tabelle III.

Phosphor auf 100 Teile Gesamt-Phosphormenge	Ochsenfleisch: Quergestr. Muskeln 1	2	Ochsenfleisch: Herzmuskeln 1	2	Glatte Muskeln: Ochs (Retr. penis) 1	2	Ochs (Magen) 1	2	Kuh (Uterus) 1	2	Bemerkungen
Phosphor in anorgan. Bindung	81,50	81,36	40,01	37,88	40,79	47,97	52,38	—	29,22	39,68	Uterus 1 (das Tier war noch nicht tragend gewesen)
Phosphor in organischer Bindung	18,50	18,64	59,99	62,12	59,21	52,03	47,62	—	70,78	60,32	
Phosphatidphosphor	16,39	16,29	—	42,25	—	24,33	25,25	—	28,39	19,46	
Anderer Phosphor in organischer Bindung	2,11	2,35	—	19,87	—	27,70	21,37	—	42,39	40,86	

Tabelle IV (aus Daten von J. Katz).

Werte in g Äq. und Beziehungen zwischen basischen und sauren Gruppen der Muskelsubstanz.

Rindfleisch	Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Chlor in g Äq. auf % g trockenes Fleisch	Natrium in g Äq. auf % g trockenes Fleisch
	Ges. Phosphormenge a 0,0686	Chlor b 0,0066	Kalium c 0,0388	Natrium d 0,0118	Ph. in anorg. Bindung e 0,0492	Chlor f 0,0066	Kalium g 0,0388	Natrium h 0,0118		
Quergestreifte Muskeln	Summe a + b = I 0,0752		Summe c + d = II 0,0506		Summe e + f = III 0,0558		Summe g + h = IV 0,0506		V 0,0066	VI 0,0118
	Unterschied I—II: + 0,0246				Unterschied III—IV: + 0,0052				Unterschied V—VI: + 0,0052	

Tabelle V.

Stierfleisch	Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Chlor in g Äq. auf % g trockenes Fleisch	Natrium in g Äq. auf % g trockenes Fleisch
	Ges. Phosphormenge a 0,05608	Chlor b 0,0176	Kalium c 0,0333	Natrium d 0,0232	Ph. in anorg. Bindung e 0,0249	Chlor f 0,0176	Kalium g 0,0333	Natrium h 0,0232		
Glatte Muskeln (Retractor penis)	Summe a + b = I 0,07368		Summe c + d = II 0,0565		Summe e + f = III 0,0425		Summe g + h = IV 0,0565		V 0,0176	VI 0,0232
	Unterschied I—II: + 0,0171				Unterschied III—IV: — 0,0140				Unterschied V—VI: + 0,0056	

Tabelle VI.

Stierfleisch	Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Chlor in g Äq. auf % g trockenes Fleisch	Natrium in g Äq. auf % g trockenes Fleisch
	Ges. Phosphormenge a 0,0569	Chlor b 0,0146	Kalium c 0,0462	Natrium d 0,0190	Ph. in anorg. Bindung e 0,0304	Chlor f 0,0146	Kalium g 0,0462	Natrium h 0,0190		
Glatte Muskeln (Magen)	Summe a + b = I 0,0715		Summe c + d = II 0,0652		Summe e + f = III 0,0450		Summe g + h = IV 0,0652		V 0,0146	VI 0,0190
	Unterschied I—II: + 0,0063				Unterschied III—IV: — 0,0202				Unterschied V—VI: + 0,0044	

Tabelle VII.

Kuhfleisch	Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalloide in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Metalle in g Äq. auf % g trockenes Fleisch		Chlor in g Äq. auf % g trockenes Fleisch	Natrium in g Äq. auf % g trockenes Fleisch
	Ges. Phosphormenge a 0,0817	Chlor b 0,0170	Kalium c 0,0313	Natrium d 0,0313	Ph. in anorg. Bindung e 0,0324	Chlor f 0,0170	Kalium g 0,0313	Natrium h 0,0313		
Glatte Muskeln (Uterus 2)	Summe a + b = I 0,0987		Summe c + d = II 0,0626		Summe e + f = III 0,0494		Summe g + h = IV 0,0626		V 0,0170	VI 0,0313
	Unterschied I—II: + 0,0361				Unterschied III—IV: — 0,0132				Unterschied V—VI: + 0,0143	

Aus den zusammengestellten Daten ergibt sich:

α) Bei den quergestreiften Muskeln übertrifft die Summe der Mengen Chlor und Phosphor den Wert der basischen Äquivalente Natrium und Kalium. Diese Beziehung besteht auch fort, wenn man von dem Gesamtphosphor nur den anorganisch gebundenen in Betracht zieht.

Wenn man der Ansicht ist, daß das Natrium ausschließlich anorganisch mit dem Chlor verbunden ist, so bleibt ein Teil davon im Überschuß zurück, der sich also anderweitig gebunden vorfinden muß.

β) Bei der glatten Muskulatur übertrifft die Summe der Äquivalente von sauren Gruppen (Chlor und Phosphor) ebenfalls den Wert der basischen (Natrium und Kalium). Diese Beziehung ist jedoch nicht mehr vorhanden, wenn man von dem Gesamtphosphor nur den anorganischen Phosphor in Betracht zieht. In diesem Falle bleibt ein Teil des Natriums und Kaliums frei, da er sich notwendigerweise nicht anorganisch gebunden vorfinden kann. Mithin müssen sich bei dieser Art von Muskeln organische Formen vorfinden, die Alkali enthalten.

Ist man der Ansicht, daß das Natrium ausschließlich an das anorganische Chlor gebunden ist, so bleibt auch bei den glatten Muskeln ein Teil desselben im Überschuß.

Wie sich aus den Tatsachen ergibt, zeigt sich zwischen quergestreifter und glatter Muskulatur ein starker Unterschied. Den hohen Werten für den organischen Phosphor bei den glatten Muskeln stehen ebenfalls hohe Werte gegenüber, die andere Forscher bei der Muskulatur von jungen, in der Entwicklung begriffenen Tieren gefunden haben.

Ich beabsichtige, noch weitere Studien über die Beziehungen, die zwischen basischen und sauren Gruppen der Muskelsubstanz im allgemeinen bestehen, anzustellen.

Über die Hemmung der Giftwirkung von NaJ, $NaNO_3$, NaCNS und anderen Natriumsalzen.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Rockefeller Institute, New York.)

(Eingegangen am 6. Juni 1912.)

I.

In früheren Arbeiten hatte ich die Frage aufgeworfen, wie es komme, daß eine Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind, am besten für die Erhaltung des Lebens der Zelle ist, und war zu dem Schluß gekommen, daß die Bedeutung dieser Salze darauf beruht, daß dieselben der Oberflächenlamelle der Zelle oder des Tieres den Grad der Dauerhaftigkeit und Undurchgängigkeit verleihen, der für die Erhaltung des Lebens nötig sei[1]). Diese Annahme erklärt den Umstand, daß eine reine NaCl-Lösung, sobald ihre Konzentration eine gewisse Grenze übersteigt, giftig ist, während dieselbe durch Zusätze von $CaCl_2$ und KCl im richtigen Verhältnis harmlos wird. Die reine NaCl-Lösung verändert die Oberflächenlamelle der Zellen, dringt infolgedessen in die Zellen (resp. das Tier) und schädigt dieselben; während der Zusatz von $CaCl_2$ und KCl die Oberflächenlamelle für NaCl relativ undurchgängig macht. Ich konnte ferner zeigen, daß eine reine KCl-Lösung von der Konzentration, in der dieses Salz im Seewasser vorhanden ist, die marinen Fische Fundulus rasch tötet, während der Zusatz von NaCl oder $CaCl_2$, oder von beiden, in bestimmtem Verhältnis, die Tiere am Leben erhält[2]). Die Erklärung war wieder die,

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **107**, 252, 1905; Science **34**, 653, 1911; diese Zeitschr. **36**, 277, 1911.

[2]) Diese Zeitschr. **31**, 450, 1911.

daß eine reine KCl-Lösung leicht in die Tiere diffundiert und die Nerven und Muskeln vergiftet; während der Zusatz von NaCl oder $CaCl_2$, oder von beiden, die Diffusion von KCl in das Tier verhindert. Es waren noch eine Reihe von anderen Beweisen gegeben worden, für die der Leser auf die betreffende Abhandlung verwiesen sei.

Wenn die Annahme richtig ist, daß die drei Salze NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem sie im Seewasser enthalten sind, die Durchgängigkeit der Fische für Salze zu einem Minimum machen, so sollte man erwarten, daß artfremde Salze und Ionen in einer solchen Mischung weniger rasch in die Fische diffundieren als in irgendeiner anderen Kombination von Salzen. Indirekt läßt sich diese Annahme dadurch prüfen, daß man versucht, ob die Fische in einer Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ eine höhere Konzentration eines artfremden oder schädlichen Salzes ertragen können als in irgendeiner anderen Kombination von Salzen. Die Resultate solcher Versuche sollen im folgenden mitgeteilt werden.

Zur Methode der Versuche sei folgendes bemerkt. Fundulus ist in weiten Grenzen unabhängig vom osmotischen Druck der umgebenden Lösung. Die Fische leben beliebig lange in einer $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser vorhanden sind, oder in einer $^m/_8$-Lösung von NaCl, oder in einer Lösung von 5 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O, oder in einer Lösung von 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O. Es wurden nun Lösungen artfremder Salze, z. B. NaJ oder NaCNS oder $NaNO_3$ und andere hergestellt, und zwar in destilliertem Wasser mit und ohne Zusatz anderer Salze. Es wurde dann ermittelt, in welchen Lösungen die Fische die höchste Konzentration des giftigen Salzes ertragen konnten. Es stellte sich nun heraus, daß in allen Fällen die Fische in einer $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ (im Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind) eine höhere Konzentration des giftigen Salzes ertragen als in irgendeiner anderen Lösung. Die Lösungen, die auf ihre gifthemmende Wirkung verglichen wurden, waren solche, in denen die Fische ohne den Zusatz der artfremden Salze beliebig lange am Leben bleiben.

Ehe die Fische in die Lösung gebracht wurden, wurden

sie vorher zweimal in Süßwasser und einmal in destilliertem Wasser gewaschen. Es wurden immer sechs Fische in je 500 ccm einer Lösung gebracht und jeden Tag die Zahl der überlebenden Fische festgestellt.

a) Entgiftung von NaBr.

Tabelle I gibt die Resultate einer Versuchsreihe über die Entgiftung von NaBr. Hierbei kommt es nicht allein auf die Zahl der überlebenden Tiere an, sondern auf die Zahl der von der Giftwirkung des Broms frei gebliebenen Tiere. Diese Giftwirkung macht sich dadurch bemerkbar, daß die Tiere auf der Seite liegen oder schwimmen und auf die geringste Erschütterung des Gefäßes wild aufspringen. Um nun die kranken von den unversehrten Tieren in der Tabelle zu unterscheiden, stellen wir die Zahl der überlebenden Tiere als eine Summe dar, wobei der erste Summand die unversehrten Tiere angibt, der zweite die Zahl der Tiere, die Vergiftungssymptome zeigen; so be-

Tabelle I.

	Zahl der nach 10 Tagen überlebenden Fische in				
		2	4	8	16
1	ccm $m/_2$-NaBr in 100 ccm H_2O	0+3	0+3	0	0+4
2	ccm $m/_2$-NaBr + 2,2 ccm $m/_2$-KCl + 1,5 ccm $m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	6	6	5+1	1+4
3	ccm $m/_2$-NaBr + 5 ccm $m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O	6	5	4	0+6
4	ccm $m/_2$-NaBr + 2,2 ccm $m/_2$-KBr + 1,5 ccm $m/_2$-$CaBr_2$ in 100 ccm H_2O	1+1	3+2	0+2	0+1
5	ccm $m/_2$-NaBr in 100 ccm $m/_8$-NaCl	6	6	4	3+2
6	ccm $m/_2$-NaBr in 100 ccm $m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	6	6	6

deutet beispielsweise 2 + 3, daß von den 5 überlebenden Tieren 2 normal und 3 vergiftet sind (auf der Seite liegen), 0 + 4 bedeutet, daß 4 Tiere überleben und vergiftet sind (auf der Seite liegen); 5 bedeutet, daß 5 Tiere überleben und alle normal sind. Wir geben die Resultate von sechs gleichzeitig angestellten Versuchsreihen in Tabelle I, und zwar dienen die Befunde am zehnten Versuchstage zum Vergleich.

In der reinen NaBr-Lösung (Reihe 1) unterliegen alle Tiere der Bromvergiftung, in der $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ (Reihe 6) bleiben alle Tiere von der Vergiftung verschont; keine andere Lösung zeigt ein so günstiges Resultat. Die nächstbeste Lösung war 5, die $^m/_8$-NaCl-Lösung. Der Umstand, daß in 16 ccm $^m/_8$-NaBr in 100 ccm $^m/_8$-NaCl ein Teil der Fische die Symptome der Bromvergiftung zeigte, beweist, daß nicht der ganze antagonistische Effekt dem Cl oder NaCl zugeschrieben werden darf, sondern daß der Zusatz von $CaCl_2$ + KCl nicht bedeutungslos ist.

Die Reihe 4 zeigt, daß der Zusatz von $CaBr_2$ + KBr nur eine sehr geringe entgiftende Wirkung hat, so daß die entgiftende Wirkung von $CaCl_2$ + KCl in Reihe 2 nicht auf das Ca und K allein bezogen werden darf, sondern auf die Salze $CaCl_2$ + KCl bezogen werden muß. Das ist theoretisch deshalb wichtig, weil es den Gedanken nahelegt, daß nicht Anionen, sondern die Chloridmoleküle für die antagonistische Wirkung in Betracht kommen. Ein Vergleich der Reihe 2 und 3 zeigt auch wieder, daß es nicht bloß auf die Anionen ankommt. In beiden Reihen ist der Zusatz an Cl-Ionen der gleiche, nur ist er in der einen Reihe (2) in der Form von $CaCl_2$ + KCl, in der anderen (3) in der Form von NaCl geliefert. $CaCl_2$ + KCl ist etwas günstiger als NaCl.

Wie schon in einer voraufgehenden Arbeit erwähnt war[1]), gelingt es weder mit $NaHCO_3$ noch mit Na_2SO_4, irgendwelche antagonistische Wirkungen gegen NaBr zu erzielen.

b) Die Entgiftung von NaJ.

Die Symptome bei der Vergiftung mit NaJ sind ähnlich wie die mit NaBr. Auch die Erscheinungen der Entgiftung sind ganz ähnlich, wie die Tabelle II zeigt.

[1]) Diese Zeitschr. 39, 185, 1912.

Tabelle II.

Zahl der nach 7 Tagen überlebenden Fische in

	1	2	4	8
1	ccm $^m/_8$-NaJ in 100 ccm H_2O			
	0	0	0	0
	1	2	4	8
2	ccm $^m/_8$-NaJ + 2,2 ccm $^m/_8$-KCl + 1,5 ccm $^m/_8$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O			
	3 + 2	0 + 4	0 + 1	0
	1	2	4	8
3	ccm $^m/_8$-NaJ + 5 ccm $^m/_8$-NaCl in 100 ccm H_2O			
	6	5	0 + 4	0
	1	2	4	8
4	ccm $^m/_8$-NaJ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl			
	4	5	0 + 4	0 + 1
	1	2	4	8
5	ccm $^m/_8$-NaJ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$			
	6	6	3 + 2	0 + 1

Wie im Falle von NaBr finden wir auch hier die kräftigste entgiftende Wirkung in der $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ (5), obwohl die $^m/_8$-Lösung von NaCl nahezu ebenso wirksam ist. Wir werden später sehen, daß auch hier die wesentlich entgiftende Wirkung von den Chlorsalzen ausgeht.

c) Die Entgiftung von $NaNO_3$.

Die Giftigkeit von $NaNO_3$ ist fast von der gleichen Größenordnung wie die von NaJ, und die Symptome sind ähnlich. Die Resultate einer Reihe von Versuchen werden in Tabelle III gegeben.

Wie in den voraufgehenden Versuchen ist die entgiftende Wirkung der Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ (5) größer als die irgendeiner anderen Kombination von entgiftenden Salzen. Am nächsten kommt ihr die entgiftende Wirkung einer $^m/_8$-NaCl-Lösung (4). $Ca(NO_3)_2$ + KNO_3 haben so gut wie keine entgiftende Wirkung, während KCl + $CaCl_2$ eine ziemlich kräftige entgiftende Wirkung ausübt, was wieder zeigt, daß die entgiftende Wirkung nicht von den Kationen Ca + K ausgeht, sondern von den Molekülen $CaCl_2$ und KCl. Na_2SO_4 und Natriumacetat hatten keine entgiftende Wirkung auf Natriumnitrat.

Tabelle III.

	Zahl der überlebenden Fische nach 4 Tagen in				
		5	10	15	20
1	ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ in 100 ccm H_2O	0	0	0	0
		5	10	15	20
2	ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ + 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	6	5	0 + 1	0
		5	10	15	20
3	ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ + 2,2 ccm $^m/_2$-KNO_3 + 15 ccm $^m/_2$-$Ca(NO_3)_2$ in 100 ccm H_2O	0 + 3	0	0	0
		5	10	15	20
4	ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl	6	6	1	0
		5	10	15	20
5	ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	6	6	0 + 4

d) Die Entgiftung von Natriumrhodanat.

Natriumrhodanat ist erheblich giftiger als die bisher untersuchten Salze. Es war daher nötig, mit niedrigeren Konzentrationen zu arbeiten, um die Überlegenheit der entgiftenden Wirkung der Ringer-Lösung über die übrigen Lösungen zu zeigen.

Tabelle IV.

	Zahl der überlebenden Fische nach 2 Tagen in			
		4	8	12
1	ccm $^m/_8$-NaCNS in 100 ccm H_2O	0	0	0
		4	8	12
2	ccm $^m/_8$-NaCNS + 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	1	0	0
		4	8	12
3	ccm $^m/_8$-NaCNS + 5 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O	0	0	0
		4	8	12
4	ccm $^m/_8$-NaCN in 100 ccm $^m/_8$-NaCl	2 + 2	0	0
		4	8	12
5	ccm $^m/_8$-NaCNS in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	5	0

Wie in allen voraufgehenden Versuchen ist auch hier wieder die entgiftende Wirkung der Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ größer als die irgendeiner anderen Kombination von Salzen. In der $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ mit NaCNS lebten die Fische mehrere Wochen lang.

e) Die Entgiftung von essigsaurem Natrium.

Essigsaures Natrium ist relativ ungiftig und deshalb wurden höhere Konzentrationen zur Anwendung gebracht. Es findet in diesen Lösungen aber rasch eine kräftige Entwicklung von Bakterien statt und es ist daher nötig, nur mit relativ kurzen Zeiträumen zu operieren.

Tabelle V.

	Zahl der überlebenden Fische nach 5 Tagen in				
		30	40	50	60
1	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ in 100 ccm H_2O	1	0	0	0
2	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ + 2,2 ccm $^m/_8$-KCl + 1,5 ccm $^m/_8$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	6	3	0	0
3	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ + 2,2 ccm $^m/_8$-KCH_3COO + 1,5 ccm $^m/_8$-$Ca(CH_3COO)_2$ in 100 ccm H_2O	4	0	0	0
4	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ + 5 ccm $^m/_8$-NaCl in 100 ccm H_2O	6	4	0	0
5	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl	0	0	0	0
6	ccm $^m/_8$-$NaCH_3COO$ in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	6	2	0

Auch hier finden wir die höchste Toleranz für essigsaures Natrium in der Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$. Es könnte auf den ersten Blick befremden, daß eine $^m/_8$-NaCl-Lösung eine so geringe entgiftende Wirkung auf essigsaures Natrium hat, während in den bisher betrachteten Fällen beispielsweise

bei der Entgiftung von NaJ oder NaBr die entgiftende Wirkung von $^m/_8$-NaCl eine recht kräftige war. Das Rätsel findet wohl seine Lösung in der Tatsache, daß wegen der relativ geringen Giftigkeit von essigsaurem Natrium recht hohe Konzentrationen des letzteren Salzes gewählt werden mußten, wodurch die Konzentration von Na die giftige Grenze fast erreichte. Wurde nun die Lösung des essigsauren Na-Acetat in $^m/_8$-NaCl gemacht, so trat dieselbe Situation ein, die wir in den früheren Arbeiten für zu hohe Konzentrationen von NaCl schilderten: nämlich eine solche Lösung ist ohne Zusatz von $CaCl_2$ giftig. Man muß bei der Entgiftung nicht nur die Natur der Salze, sondern auch ihre Konzentrationen berücksichtigen.

Wir verstehen es nun auch, daß ein kleinerer Betrag von NaCl, nämlich 5 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O, eine deutliche entgiftende Wirkung ausübt, wie 4 zeigt und daß diese Wirkung ebenso stark ist wie die durch Zusatz von $CaCl_2 + KCl$ erzielte, was darauf hinweist, daß die Chloridmoleküle die wesentliche entgiftende Wirkung ausüben. $KCH_3COO + Ca(CH_3COO)_2$ üben fast keine entgiftende Wirkung aus, was nach dem Gesagten ja zu erwarten war.

Wir müssen uns deshalb folgende Vorstellung über die entgiftende Wirkung der $^m/_8$-Lösung von $NaCl + KCl + CaCl_2$ in diesem Falle bilden. Die wesentlich entgiftende Wirkung geht vom NaCl aus. Das $CaCl_2 + KCl$ dient zur Entgiftung der Na-Salze dieser Lösung, deren Konzentrationen die Giftgrenze übersteigt.

f) Die Entgiftung von buttersaurem Natrium.

Um die vorhin aufgestellte Behauptung zu prüfen, daß die $^m/_8$-NaCl-Lösung nur deshalb das essigsaure Natrium nicht zu entgiften imstande war, weil das letztere wegen seiner geringen Giftigkeit in zu hohen Konzentrationen zur Anwendung kommen mußte, wurden Versuche mit buttersaurem Natrium angestellt. Das letztere ist viel giftiger als das essigsaure Natrium und konnte deshalb in viel geringeren Konzentrationen zur Anwendung kommen. Es war deshalb zu erwarten, daß dieses Salz durch eine $^m/_8$-NaCl-Lösung wenigstens zum Teil entgiftet werden könne, was auch in der Tat zutraf.

Tabelle VI.

	Zahl der überlebenden Fische nach 6 Tagen in				
		4	6	8	12
1	ccm $^m/_2$-Nabutyrat in 100 ccm H_2O	2	4	0	0
2	ccm $^m/_2$-Nabutyrat + 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	3	6	5	6
3	ccm $^m/_2$-Nabutyrat + 5 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O	4	4	5	3
4	ccm $^m/_2$-Nabutyrat in 100 ccm $^m/_8$-NaCl	6	6	4	0
5	ccm $^m/_2$-Nabutyrat in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	6	6	4

Der Umstand, daß der Zusatz von 5 ccm $^m/_2$-NaCl (3) fast so günstig wirkt, wie der Zusatz von 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ zeigt, daß die entgiftende Wirkung dieser Stoffe zum großen Teile ihrem Gehalt an Cl zuzuschreiben ist.

g) Die Entgiftung von Natriumsulfat.

Na_2SO_4 ist im Seewasser enthalten und kann deshalb nicht als artfremdes Salz für die Fische angesehen werden. Die Versuche mit Natriumsulfat bringen einen neuen theoretisch wichtigen Umstand in die Analyse dieser Vorgänge. In allen bisher erwähnten Versuchen mit Natriumsalzen fiel die entgiftende Wirkung hauptsächlich den Chloriden zu. Das ist vielleicht auch bei Na_2SO_4 der Fall. Aber Na_2SO_4 ist relativ ungiftig und muß deshalb in diesen Versuchen in hohen Konzentrationen angewendet werden; das wird dieselbe Komplikation bedingen, der wir schon im Falle von $NaCH_3COO$ begegneten, daß eine $^m/_8$-NaCl-Lösung nur dann entgiftend wirkt, wenn KCl und $CaCl_2$ in der Lösung sind. Zweitens aber gehört SO_4 zu den calciumfällenden Ionen. Na_2SO_4 wirkt also in einer spezifisch anderen Weise als alle die bisher betrachteten Salze, und so dürfen wir auch a priori erwarten, daß Ca für die Entgiftung

von Na_2SO_4 eine viel größere Rolle spielt als in den bisher erwähnten Versuchen. Alles das trifft zu.

Es sei nebenbei erwähnt, daß, wenn man die Fische in die Lösung irgendeines calciumfällenden Salzes bringt, z. B. Natriumoxalat, Natriumtartrat und Na_2SO_4, oft (aber nicht immer) Blutungen aus den Kiemen stattfinden. Es handelt sich offenbar um Erhöhung der Durchgängigkeit der Blutgefäße, vielleicht auch um Verringerung der Gerinnfähigkeit des Blutes, beides infolge der Entziehung des Ca aus der Oberflächenlamelle der Gefäße. Die in Tabelle VII wiedergegebenen Versuche wurden wie immer gleichzeitig angestellt.

Tabelle VII.

Zahl der überlebenden Fische nach 3 Tagen in

	Lösung	35	40	45	50
1	ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 in 100 ccm H_2O	0	0	0	0
2	ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	6	6	5	4
3	ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + 2,2 ccm $^m/_2$-K_2SO_4 + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaSO_4$ in 100 ccm H_2O (50[1])	0	1	0	0
4	ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + 5 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O	0	0	0	0
5	ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 in 100 ccm $^m/_8$-NaCl	0	0	0	0
6	ccm Na_2SO_4 in 100 ccm $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$	6	5	1	0

Diese Resultate sind charakteristisch. Die stärkste entgiftende Wirkung finden wir in Lösung 2 bei Zusatz von 2,2 ccm $^m/_2$-KCl + 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$. Kontrollversuche zeigten,

[1]) Der Kürze halber ist der Ausdruck $^m/_2$-$CaSO_4$ gebraucht. In Wirklichkeit war natürlich das Äquivalent von 1,5 ccm $^m/_2$-$CaSO_4$ in 100 ccm der Lösung gelöst.

daß das $CaCl_2$ der wesentlich wirksame Bestandteil ist. Es ist nun von großem Interesse, daß $CaSO_4$ fast unwirksam ist und nur $CaCl_2$ wirksam ist, wie ein Vergleich von 2 mit 3 zeigt. Andererseits ist der Zusatz von 5 ccm $^m/_8$-NaCl ganz unwirksam. Das weist meines Erachtens darauf hin, daß die entgiftende Wirkung von Salzen und nicht von Ionen ausgeht. $CaCl_2$ entgiftet; $CaSO_4$ entgiftet nicht! Daß eine $^m/_8$-Lösung von NaCl + $CaCl_2$ + KCl nicht so günstig wirkt wie der Zusatz von 2,2 ccm KCl + 1,5 ccm $CaCl_2$, liegt wohl daran, daß die Na-Konzentration zu hoch war. Es kann aber auch ein Zufall im Spiele sein.

Es gelang ferner auch zu zeigen, daß die entgiftende Wirkung einer Lösung von $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$ auf LiCl und NH_4Cl ein Maximum war. Wir wollen aber hierauf in dieser Arbeit nicht eingehen.

Wir dürfen demnach wohl schließen, daß eine $^m/_8$-Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind, eine größere Menge von Salzen mit artfremden Ionen zu entgiften vermag, als irgendeine andere Kombination. Vielleicht würde eine Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in einer etwas höheren Konzentration als $^m/_8$ eine noch etwas größere entgiftende Wirkung besitzen. Das ist hier nicht untersucht worden.

II.

Wir haben in früheren Arbeiten den Begriff des Entgiftungskoeffizienten eingeführt; darunter verstehen wir den Quotienten der Konzentration des giftigen in die zur Entgiftung eben ausreichende Konzentration des entgiftenden Salzes. Dabei sprechen wir von entgiftender Wirkung, wenn die Fische von den Vergiftungssymptomen frei bleiben. Zur

Tabelle VIII.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 6 ccm $^m/_8$-$NaNO_3$ +								
	1	2	4	6	8	16	25	36	48
	ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O								
3	4+1	6	6	6	6	6	6	4	3
6	1+3	2+4	6	6	5	6	5	3	3
8	0+4	2+4	5	6	5	6	5	2	1
12	0+4	0+6	5	6	4	6	2	0	0

Illustration mögen neben den in unseren früheren Arbeiten mitgeteilten Versuchen auch die folgenden einen Platz finden. Wie erwähnt, wurden stets 6 Fische am Anfang des Versuches in je 500 ccm der Lösung gebracht und die Zahl der überlebenden Fische jeden Tag festgestellt.

In Tabelle VIII haben wir ein ziemlich bestimmtes Resultat. Der Zusatz von 4 ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ und darüber verhinderte während der Versuchsdauer den Eintritt der Nitratvergiftung (Verlust des Gleichgewichtes der Fische), und wir dürfen deshalb sagen, daß 4 ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ zur Hemmung der Giftwirkung von 6 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ ausreichen. Der Entgiftungskoeffizient $NaNO_3/CaCl_2$ ist deshalb $= 3$. Der Zusatz von 36 oder mehr ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ wirkt durch den Überschuß von $CaCl_2$ schädlich.

Wir fügen nun zum Vergleich einen gleichzeitig angestellten Entgiftungsversuch von 6 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ durch NaCl bei.

Tabelle IX.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 6 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ +						
	0	2	4	6	8	16	25
	ccm in 100 ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O						
3	1 + 2	1 + 2	4 + 1	4 + 1	3 + 2	5	6
6	0 + 1	1 + 1	2	0 + 1	4	5	6
8	0	0	1	1	3	5	5
12			0	1	1	4	0

Vergleichen wir Tabelle IX mit Tabelle VIII, so fällt zunächst auf, daß viel mehr Fische in der NaCl-Reihe (Tabelle IX) sterben als in der $CaCl_2$-Reihe (Tabelle VIII). Die Entgiftung durch $CaCl_2$ ist also eine vollständigere als die durch NaCl. Wenn wir die Entgiftung darauf zurückführen, daß durch Zusatz des entgiftenden Salzes die Oberfläche (etwa die Kiemen der Fische) für beide Salze undurchgängig wird, so müssen wir sagen, daß $CaCl_2$ die „Gerbung“ der Oberflächenlamelle besser besorgt als NaCl. Auch die Grenze, bei der die Entgiftung durch NaCl herbeigeführt wird, ist in diesem Falle nicht so scharf bestimmbar wie im Falle der Entgiftung durch $CaCl_2$. Es unterliegt keinem Zweifel, daß 16 ccm $^m/_2$-NaCl für die Entgiftung ausreichen. Wir dürfen aber wohl den Wert 8 ccm $^m/_2$-NaCl als die Grenze annehmen. Das wird durch andere Versuchsreihen bestätigt, die hier wohl nicht mitgeteilt

zu werden brauchen. Wir würden danach den Entgiftungskoeffizienten $NaNO_3/NaCl = {}^6/_8$ ansehen.

Zwei Versuchsreihen über die Entgiftung von 4 ccm $NaNO_3$ in 100 ccm H_2O durch NaCl und $CaCl_2$ ergaben die folgenden Werte:

4 ccm $NaNO_3$ entgift. durch 4 ccm $^m/_2$-NaCl E.-K. $NaNO_3/NaCl = 1$
4 „ $NaNO_3$ „ „ 2 „ $^m/_4$-$CaCl_2$ „ $NaNO_3/CaCl_2 = 4$

Eine Versuchsreihe mit 10 ccm $NaNO_3$ in 100 ccm H_2O ergab die folgenden Entgiftungskoeffizienten:

10 ccm $NaNO_3$ entgift. d. 8 ccm $^m/_2$-NaCl E.-K. $NaNO_3/NaCl = 1{,}25$
10 „ $NaNO_3$ „ „ 4 „ $^m/_2$-$CaCl_2$ „ $NaNO_3/CaCl_2 = 2$

15 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ in 100 ccm H_2O konnten überhaupt durch keine Quantität von NaCl oder $CaCl_2$ mehr entgiftet werden. Dieses Bestehen einer oberen Grenze des giftigen Salzes, oberhalb der keine Entgiftung mehr möglich ist, ist charakteristisch für alle diese Versuche, worauf schon bei Gelegenheit der Entgiftung von KCl durch NaCl hingewiesen wurde. Versuche, das $NaNO_3$ durch $Ca(NO_3)_2$ zu entgiften, gelangen nicht; ebensowenig gelang es, irgendwelche entgiftende Wirkung durch Na_2SO_4 zu erzielen. Wir dürfen daraus wohl schließen, erstens daß nur Chloride zur Entgiftung von $NaNO_3$ geeignet sind; und zweitens, daß die entgiftende Wirkung von $CaCl_2$ derjenigen von NaCl überlegen ist; ein Resultat, das sich überall bestätigt, wo nur niedrige Konzentrationen beider Salze in Betracht kommen, worauf wir schon in einer voraufgehenden Abhandlung hingewiesen haben.

Für die Ermittlung der Entgiftungskoeffizienten von NaJ haben wir nur Versuchsreihen für 2 ccm $^m/_2$-NaJ in 100 ccm H_2O. In einem Falle wurde NaCl, im anderen $CaCl_2$ zur Entgiftung verwendet. Tabellen X und XI dürfen als Beispiel dienen.

Tabelle X.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 2 ccm $^m/_2$-NaJ +								
	0	1	2	3	4	6	8	10	15
	ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O								
3	0	0	2	2	2	4	6	4	6
6			0 + 1	1 + 1	0	3	4	4	3
11			0 + 1	0		3	3	4	3

Tabelle XI.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 2 ccm $^m/_2$-NaJ +							
	1	2	3	4	6	8	10	15
	ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O							
3	3	4	4+1	6	6	6	5	6
6	1	4	4+1	5+1	6	6	4	6
11	0+1	4	5	6	6	6	4	6

Die Zahl der überlebenden Fische ist wieder größer bei der Entgiftung durch $CaCl_2$ als bei der Entgiftung durch NaCl. Als die Grenze für die Entgiftung von 2 ccm $^m/_2$-NaJ in 100 ccm H_2O können wir 6 ccm $^m/_2$-NaCl und etwa 4 bis 6 ccm $^m/_4$-$CaCl_2$ annehmen. Der Entgiftungskoeffizient ist also für NaJ/NaCl etwa $^1/_3$; für NaJ/$CaCl_2$ etwa 1 bis $^2/_3$. Es ist beachtenswert, daß in dem Versuche mit $CaCl_2$ als entgiftendes Salz in den Lösungen mit wenig $CaCl_2$ die Fische in den ersten Tagen Gleichgewichtsstörungen zeigen, die später wieder verschwinden. Hier handelt es sich wohl darum, daß allmählich durch Einwirkung von Ca etwas HJ gebildet wird, die in einer für die Fische unschädlichen Weise an der Oberfläche der Fische gebunden wird; oder daß durch Bildung von freiem Jod allmählich die Konzentration des NaJ vermindert wird, so daß nun die anfänglich unzulängliche Menge von $CaCl_2$ für die Entgiftung ausreicht.

Im Falle von NaCNS wurde gefunden, daß 4 ccm $^m/_8$-NaCNS durch 36 ccm $^m/_2$-NaCl und durch 8 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ entgiftet werden. Auch hier blieben bei Anwendung von $CaCl_2$ viel mehr Fische am Leben als bei Anwendung von NaCl.

Wie schon erwähnt, verhält sich Na_2SO_4 abweichend von diesen Salzen in doppelter Hinsicht: Erstens wird es erst giftig in viel höheren Konzentrationen und zweitens konkurriert es um das Ca, von dem wir annehmen, daß es an der Oberfläche der Zellen chemisch gebunden ist. Es gelingt nun so gut wie gar nicht, Na_2SO_4 durch NaCl zu entgiften, was wir ja schon früher diskutiert haben. Dagegen gelingt die Entgiftung von Na_2SO_4 durch $CaCl_2$ und $MgCl_2$. Wir wollen einige Belege hierfür geben.

Tabelle XII.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 +								
	0	1	2	4	8	16	20	25	30
	ccm $^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O								
2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
3						0			

In einer Reihe dieser Lösung fanden Blutungen aus den Kiemen statt. Gleichzeitig wurde der folgende Versuch angestellt.

Tabelle XIII.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 +							
	1	2	4	8	16	20	25	30
	ccm $^m/_{50}$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O							
2	2	4	6	6	6	5	5	6
3	1	1	3	2	4	3	5	5
7	0	0	1	0	2	3	4	4

In keinem Versuche der Calciumreihe kam es zu Blutungen. Ein Vergleich der Tabellen zeigt, daß NaCl keine Entgiftung herbeiführt, während $CaCl_2$ in dieser Hinsicht äußerst wirksam ist. Auch durch $MgCl_2$ läßt sich die Giftwirkung von Na_2SO_4 hemmen, nur ist hierfür eine viel größere Konzentration von $MgCl_2$ als von $CaCl_2$ erforderlich, was ja den für die Entgiftung von NaCl und KCl gewonnenen Erfahrungen entspricht.

Tabelle XIV.

Nach Tagen	Zahl der überlebenden Fische in 30 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 +										
	0	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	7,5	10,0	15,0	20,0
	ccm $^m/_4$-$MgCl_2$ in 100 ccm H_2O										
1	0	2	3	5	4	4	6	6	6	6	6
4		0	0	0	0	1	4	3	6	5	5
7						1	1	0	6	4	5

Man kann in diesem Falle die Grenze für die Hemmung der Giftwirkung bei 4,0 ccm $^m/_4$-$MgCl_2$ setzen. Ein gleichzeitig angestellter Versuch mit $CaCl_2$ ergab dieselbe Grenze bei 5,0 ccm $^m/_{100}$-$CaCl_2$. Die entgiftende Wirkung von $CaCl_2$ ist demnach etwa 20 mal so groß wie die von $MgCl_2$.

Wir kommen also zu dem Resultat, daß die Giftwirkung von nichtchlorhaltigen Natriumsalzen durch Chloride, und zwar

durch NaCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ gehemmt werden kann. Die Calciumsalze haben durchweg eine stärkere gifthemmende Wirkung als die Natriumsalze. Dieser Unterschied ist besonders groß bei Na_2SO_4.

III.

Wir haben wiederholt in dieser Arbeit auf die Tatsache hingewiesen, daß $CaCl_2$ eine stärkere entgiftende Wirkung hat als andere Calciumsalze. Wenn man das Äquivalent von 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ in der Form von $CaSO_4$ zu Na_2SO_4 zufügt, so wird nur eine geringe Verzögerung der Giftwirkung von Na_2SO_4 beobachtet. In 25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + Äquivalent 1,5 ccm $^m/_2$-$CaSO_4$ in 100 ccm H_2O leben die Fische etwa 1 Tag länger als in 25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 in 100 ccm H_2O. Es gelingt auch nicht ein besseres Resultat zu erzielen, wenn man $CaSO_4$ in irgendeinem anderen Verhältnis zusetzt. Setzt man aber 0,4 ccm bis 3,0 ccm $^m/_{20}$-$CaCl_2$ zu 25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 in 100 ccm H_2O zu, so bleiben die meisten oder alle Fische wochenlang am Leben. In diesem Falle hängt also die entgiftende Wirkung fast gar nicht von dem Ca-Ion, sondern von dem Molekül $CaCl_2$ ab. Es war nun von Interesse zu untersuchen, ob andere Calciumsalze die Giftwirkung von Na_2SO_4 zu hemmen vermögen. Es wurde essigsaures Calcium, $CaBr_2$ und $Ca(NO_3)_2$ angewendet. Alle vermochten die Giftwirkung von Na_2SO_4 nur sehr wenig zu hemmen, obwohl die Fische in den reinen Lösungen dieser Calciumsalze, in den Konzentrationen, die in diesen Versuchen benutzt wurden, beliebig lange leben. Wir sahen, daß $MgCl_2$ imstande ist, die Giftwirkung von Na_2SO_4 etwas zu hemmen. Wir stellten eine Versuchsreihe mit $MgSO_4$ an und fanden, daß dieser Stoff fast wirkungslos ist. Tabelle XV gibt die Resultate.

Hierzu ist folgendes zu bemerken: Während die Lösungen mit 16 ccm oder mehr $^m/_{20}$-$CaCl_2$ völlig entgiftet waren und blieben, und selbst die Lösungen mit weniger $CaCl_2$ teilweise entgiftet waren, war in den Lösungen, in denen $CaBr_2$ oder $Ca(NO_3)_2$ zugesetzt war, so gut wie keine entgiftende Wirkung vorhanden. Nur das essigsaure Calcium (4) hat eine schwache gifthemmende Wirkung. Nach 6 Tagen waren aber auch in dieser Reihe alle Fische bis auf einen tot, während in Reihe 1

Tabelle XV.

	Zahl der überlebenden Fische nach 4 Tagen in									
1	25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + ccm $^m/_{20}$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	0	2	4	8	16	20	30		
		0	2	3	2	6	6	5		
2	25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + ccm $^m/_{20}$-$CaBr_2$ in 100 ccm H_2O	0	2	4	8	16	20	30		
		0	1	0	0	0	0+1	0		
3	25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + ccm $^m/_{20}$-$Ca(NO_3)_2$ in 100 ccm H_2O	0	2	4	8	16	20	30		
		0	0	0	0	0	0	0		
4	25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + ccm $^m/_{20}$-$Ca(CH_3COO)_2$ in 100 ccm H_2O	0	2	4	8	16	20	30		
		0	1	0	0	0	2	1		
5	25 ccm $^m/_2$-Na_2SO_4 + ccm $^m/_2$-$MgSO_4$ in 100 ccm H_2O	0	2	4	8	16	20	30	40	50
		0	0	0	0	0	1	0	0	0

mit $CaCl_2$ noch 18 Fische am Leben waren. Auch $MgSO_4$ hat nur eine sehr schwache hemmende Wirkung auf Na_2SO_4. Wir haben also folgende drei Gruppen von Tatsachen: 1. Eine an sich giftige Lösung von Na_2SO_4 wird durch Zusatz von einer kleinen Quantität $CaCl_2$ und mit einer etwas größeren von $MgCl_2$ entgiftet. 2. Die Giftigkeit derselben Na_2SO_4-Lösung wird durch eine NaCl-Lösung mit demselben oder mit geringerem oder größerem Gehalt an Cl nicht verringert. 3. Die Giftigkeit derselben NaCl-Lösung wird durch $CaSO_4$, $CaBr_2$, $Ca(NO_3)_2$, $Ca(CH_3COO)_2$ und $MgSO_4$ nicht oder fast nicht verringert. Daraus folgt, daß die antagonistische Wirkung von $CaCl_2$ auf Na_2SO_4 durch das Salz $CaCl_2$ und nicht durch das Ca-Ion oder das Cl-Ion bestimmt ist.

Eine ähnliche Versuchsreihe wurde für die Entgiftung von 4 ccm $NaNO_3$ durchgeführt. Auch hier zeigte es sich, daß $CaCl_2$ eine kräftige entgiftende Wirkung hat, daß aber $Ca(NO_3)_2$ und essigsaures Calcium fast keine entgiftende Wirkung besitzen.

2 Tage später waren in Reihe 3 alle Fische tot, während sie in Reihe 1 meist beliebig lange, d. h. wochenlang, weiter leben.

Aber in diesem Falle haben wir die Komplikation, daß auch NaCl in geringer Konzentration entgiftend wirkt, so daß

Tabelle XVI.

	Zahl der überlebenden Fische nach 3 Tagen in								
1	4 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ + … ccm $^m/_{20}$-$CaCl_2$ in 100 ccm H_2O	0	1	2	4	8	16	20	30
		0	0	2	3	6	5	3	6
2	4 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ + … ccm $^m/_{20}$-$Ca(CH_3COO)_2$ in 100 ccm H_2O		1	2	4	8	16	20	30
			0	0	0	0	0	0	0
3	4 ccm $^m/_2$-$NaNO_3$ + … ccm $^m/_2$-$Na(NO_3)_2$ in 100 ccm H_2O		1	2	4	8	16	20	30
			1	0	0	0	1+1	0	0

in diesem Falle die entgiftende Wirkung dem Cl-Ion zugeschrieben werden dürfte.

Weitere Beispiele derselben Art finden sich in Tabelle I und V. Es gibt also jedenfalls Fälle, in denen wir mit Sicherheit behaupten können, daß die entgiftende Wirkung eines Calciumsalzes nicht von einem Ion, sondern vom Molekül ausgeht. Wir dürfen aber den Fall nicht verallgemeinern, da wir früher sahen, daß KCl auch durch Na_2SO_4 entgiftet werden kann, und zwar ist das letztere 2 mal so wirksam wie eine äquimolekulare Lösung von NaCl. In diesem Falle ging also die entgiftende Wirkung wohl von dem Na-Ion aus; wenigstens ist nicht bewiesen oder beweisbar, daß sie vom Salzmolekül ausgeht.

Ich fand, daß NaJ durch NaCl, aber weder durch Na_2SO_4 noch durch $NaNO_3$ oder $NaCH_3COO$ entgiftet werden kann. Ob aber das Cl-Ion und nicht das NaCl die Entgiftung bewirkt, läßt sich nicht entscheiden. LiCl und NH_4Cl sind schon in so kleinen Dosen giftig, daß dieselben für diese Zwecke nicht verwertbar sind. Es scheint aber, daß NH_4Cl eine etwas stärker entgiftende Wirkung auf NaJ hat als das viel ungiftigere $NaCH_3COO$.

IV.

Auf Grund früherer Arbeiten war der Autor zu der Annahme gelangt, daß die antagonistische Wirkung der Elektrolyte zum Teil wenigtens darauf beruht, daß die antagonistischen Elektrolyte sich gegenseitig am Eindringen in die Zellen oder die Organismen hindern; und zwar dadurch, daß sie die Ober-

flächenlamelle füreinander undurchgängiger machen. Diese Änderung haben wir als „Gerbung" bezeichnet, wobei wir jedoch im Auge behalten müssen, daß der eigentlichen Gerbung ein irreversibler Prozeß zugrunde liegt, während es sich bei der Beeinflussung der Oberflächenlamelle lebender Zellen durch Salze oft wenigstens um reversible Änderungen handelt.

Diese Ansichten führten logischerweise zu der Annahme, daß die Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser vorhanden sind, deshalb für die Erhaltung des Lebens der Zelle so günstig ist, weil sie der Oberflächenlamelle diejenige physikalische Beschaffenheit erteilt, bei der sie am dauerhaftesten und zugleich für Elektrolyte am undurchgängigsten ist. Um diese letztere Ansicht zu prüfen, waren die hier geschilderten Versuche unternommen worden. Wenn wirklich die Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ die Zellen am undurchgängigsten für Elektrolyte macht, so sollte sich das auch u. a. darin zeigen, daß Salze mit artfremden Ionen dann am langsamsten in die Tiere oder die Zellen eindringen, wenn die artfremden Elektrolyte einer Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ zugefügt werden, als wenn sie irgendeiner anderen Lösung von Salzen zugefügt werden. Das müßte sich darin zeigen, daß die Tiere in einer Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ eine höhere Dosis dieser giftigen Salze ertragen sollten als in irgendeiner anderen Lösung oder Mischung von Salzen. Das traf nun in unseren Versuchen an Fundulus zu. Ein Versuch dieser Art kann nur bei solchen Organismen Beweiskraft beanspruchen, die von dem osmotischen Druck oder der Zusammensetzung des umgebenden Mediums in weiten Grenzen unabhängig sind. Denn sonst würde ja der Einwand naheliegen, daß auch bei positivem Ausfall die Versuche nichts beweisen, da die Tiere ohnedies nur in einer Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ leben können. Die Tiere, die wir zu diesen Versuchen gewählt haben, bilden fast ein Unikum in der Biologie, indem sie hinreichend klein sind, um zu Versuchen benutzbar zu sein, in hinreichend großen Mengen leicht erhalten werden können und in weiten Grenzen sowohl vom osmotischen Druck wie von der Zusammensetzung des Mediums unabhängig sind. Wie schon in den früheren Arbeiten erwähnt wurde, leben diese Fische beliebig lange in einer Lösung von 5 ccm

$^m/_2$-NaCl in 100 ccm H_2O oder in einer Lösung von 1,5 ccm $^m/_2$-$CaCl_2$ + 2,2 ccm $^m/_2$-KCl in 100 ccm H_2O oder in reinen Lösungen von $MgCl_2$ oder $CaCl_2$, wenn dieselben keine zu hohe Konzentration erreichen, oder in Lösungen von $Ca(NO_3)_2$ oder $CaBr_2$ von niedriger Konzentration; kurz in all den Lösungen, die in diesen Versuchen zur Entgiftung benutzt wurden. Man kann also nicht sagen, daß es sich hier um Versuchstiere handelt, die nur an eine Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ angepaßt seien.

Ein solcher Einwand würde nun nun auch durch die Versuche des zweiten Abschnittes widerlegt werden, in denen die Giftwirkung des artfremden Salzes nur durch ein Salz, z. B. NaCl oder $CaCl_2$, gehemmt wurde. Diese Versuche haben nun ein sehr bemerkenswertes Resultat ergeben: Natriumsalze mit einem artfremden Anion, wie Br, J, NO_3, CNS, CH_3COO werden nur durch Chloride entgiftet, resp. an der Giftwirkung verhindert. NaCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ erwiesen sich als wirkungsvoll, $CaCl_2$ gewöhnlich wirksamer als NaCl. Aber der Unterschied zwischen der Wirksamkeit von NaCl und $CaCl_2$ war klein im Vergleich mit diesem Unterschied bei der Entgiftung von KCl durch diese Salze. Im letzteren Falle war $CaCl_2$ mindestens mehrere hundert Male so wirksam wie NaCl, bei der Entgiftung der artfremden Anionen trat der Unterschied der Kationen viel mehr zurück. Für die Entgiftung von KCl war Na_2SO_4 brauchbar, und zwar war es zweimal so wirksam wie die äquimolekulare Lösung von NaCl, was alles darauf hinweist, daß bei der Entgiftung des giftigen Kations K in erster Linie die Kationen in Betracht kommen. Für die Entgiftung der artfremden Anionen war Na_2SO_4 gänzlich unbrauchbar. Alles weist also darauf hin, daß in diesem Falle die wesentlich entgiftende Wirkung dem Anion Cl zukommt.

Dagegen macht es nicht den Eindruck, als ob für die Entgiftung von Na_2SO_4 Ionen in Betracht kämen, sondern einige Beobachtungen deuten darauf hin, daß hier die Salzmoleküle die entgiftende oder die „gerbende“ Wirkung ausüben. Sehr wenig $CaCl_2$ entgiftet eine große Menge Na_2SO_4; $CaSO_4$, $Ca(NO_3)_2$ und $Ca(CH_3COO)_2$ haben aber so gut wie gar keine entgiftende Wirkung. $MgCl_2$ entgiftet Na_2SO_4; $MgSO_4$ hat aber keine entgiftende Wirkung.

Die „gerbende" Wirkung der Salze, insbesondere der Mischung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem geeignetsten Verhältnis, dürfen wir uns vielleicht so vorstellen, als ob diese drei Salze mit einem oder mehreren Bestandteilen der Oberfläche der Zellen oder des Tieres (Eiweißkörper?) (molekulare?) Verbindungen eingehen. Diese Verbindungen verleihen der Oberfläche eine besondere Struktur, die eine relativ hohe Undurchgängigkeit garantiert. Kommen die Fische in eine Lösung von etwa $NaNO_3$, so findet nach dem Massenwirkungsgesetze ein Austausch von NaCl und $NaNO_3$ in der Oberflächenlamelle statt, und die $NaNO_3$-Moleküle, die die NaCl-Moleküle aus der Oberflächenlamelle verdrängt haben, können in den Fisch eindringen und die Gehirnsymptome hervorrufen. Fügt man aber der äußeren Lösung NaCl oder $CaCl_2$ in genügender Konzentration zu, so werden diese mit den $NaNO_3$-Molekülen um die Eiweißmoleküle, oder sonstige in Betracht kommende Moleküle, konkurrieren und damit die Zahl der $NaNO_3$-Moleküle verringern, die sonst mit der Oberflächenlamelle in Verbindung treten und damit in das Tier eindringen. Es ist möglich, daß das die Methode ist, durch die Salze in die Zelle eindringen.

Es fehlt nun nicht an direkten Beobachtungen, die darauf hinweisen, daß diese Ansicht begründet ist. P. Hanzlik hat kürzlich die Absorption von Arzneimitteln aus dem Darm untersucht und dabei durch quantitative Analyse des Inhaltes lebender Darmschlingen festgestellt, daß NaJ langsamer aus dem Darm verschwindet, wenn man NaCl zusetzt[1]). Das ist genau dieselbe Erscheinung, die wir bei Fischen beobachteten, nur mit dem Unterschied, daß wir es im letzteren Falle mit der Diffusion des NaJ in den Fisch zu tun haben. NaCl verringert die Geschwindigkeit, mit der NaJ in die Fische eindringt, und darauf beruht wohl die antagonistische Wirkung der Salze, wie wir in diesen Versuchen diskutiert haben.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die giftige Wirkung von $NaNO_3$, NaJ, NaCNS, essigsaurem und buttersaurem Natrium auf Fundulus wird durch Zusatz von NaCl oder $CaCl_2$ gehemmt. Die entgiftende Wirkung von $CaCl_2$ ist etwas größer als die von NaCl.

---

[1]) Journ. Pharmacol. and Experim. Therap. 3, 387, 1912.

2. Während jedes dieser Salze durch $CaCl_2$ entgiftet werden kann, hat der Zusatz anderer Calciumsalze keine oder fast keine entgiftende Wirkung. Das weist darauf hin, daß die wesentliche entgiftende Wirkung den Chloriden resp. Chlorionen zukommt; von allen Chloriden kommen aber für diesen Zweck nur NaCl, $CaCl_2$ und in geringerem Grade $MgCl_2$ in Betracht.

3. Na_2SO_4 wird nicht durch NaCl, wohl aber durch kleine Dosen $CaCl_2$ entgiftet. Gleiche Konzentrationen von $CaSO_4$, $CaBr_2$, $Ca(NO_3)_2$ und $Ca(CH_3COO)_2$ hatten keine oder nur eine kaum merkbare hemmende Wirkung. Aus diesen Tatsachen dürfen wir wohl schließen, daß in diesem Falle die entgiftende Wirkung von $CaCl_2$ nicht einem seiner Ionen, sondern dem Molekül zukommt.

4. Eine Mischung von $^m/_8$-NaCl + KCl + $CaCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind, hemmt die Giftwirkung von NaBr, NaJ, $NaNO_3$, NaCNS, $NaCH_3COO$ und $NaCH_3CH_2CH_2COO$ besser als irgendeine andere Lösung.

5. Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, daß die entgiftenden Wirkungen von NaCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$, resp. der Kombination NaCl + KCl + $CaCl_2$ darauf beruhen, daß durch den Einfluß dieser Salze die Oberflächenlamelle der Zellen intakt erhalten und die Diffusion der giftigen Salze in den Fisch verlangsamt wird.

Verbessertes Verfahren zum Trocknen von wässerigen, tierischen und pflanzlichen Flüssigkeiten, Organbrei usw. mit wasserfreiem Natriumsulfat.

Von

Vladimir Njegovan.

(Aus dem kgl. kroat.-slav. Landes-Agrikulturchemischen Institut zu Križevci, Kroatien.)

(Eingegangen am 15. Juni 1912.)

Um verschiedene wässerige Flüssigkeiten, Brei usw., ohne Anwendung von hoher Temperatur, großer mikroorganismenführender Luftmengen usw. zu trocknen, versuchten mehrere Autoren[1]), das Wasser an wasserfreies Natriumsulfat zu binden. Das bisherige Verfahren zeigt aber die unangenehme Eigenschaft, daß bei der Extraktion der so gewonnenen Masse mit wasserfreien organischen Extraktionsmitteln Natriumsulfat in den Extrakt gelangt. Fränkel und seine Mitarbeiter[2]) glauben diese Tatsache erklärt zu haben, indem sie der Meinung sind, „daß die ungesättigten Phosphatide insbesondere das Kephalin ... Glaubersalz in Petroläther aufzulösen vermögen ...“ Diese Erklärung ist aber nicht richtig. Wasserfreies Natriumsulfat bindet zwar 10 Moleküle Krystallwasser, aber das gebildete Glaubersalz ($Na_2SO_4 + 10 H_2O$) ist nur unter 33° beständig; bei 33° schmilzt das Glaubersalz, indem es sein Krystallwasser abspaltet und sich das gebildete wasserfreie Natriumsulfat in diesem Wasser teilweise auflöst[3]). Da gewöhnliche Extraktionsmittel oberhalb 33° sieden und

---

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. **18**, 294, 1656, 1905; zitiert nach Chem. Zentralbl. — Sommerfeld, Handbuch der Milchkunde. Wiesbaden 1909, S. 267; diese Zeitschr. **28**, 330, 1910; **29**, 491, 1910; **40**, 138, 1912. — Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **5** [1], 616.

[2]) Abderhalden l. c.; diese Zeitschr. **40**, 138, 1912; vgl. auch Zeitschr. f. physiol. Chem. **58**, 503, 1908/9.

[3]) Dammer, Handb. d. anorgan. Chem. **2** [2], 156.

das Extraktionsgut gewöhnlich über diese Temperatur erwärmt wird, ist dasselbe somit während der ganzen Extraktionsdauer mit Wasser durchtränkt, und die gebildete wässerige Natriumsulfatlösung gelangt dann leicht teilweise in den Extrakt hinüber[1]); der Nachteil erscheint noch größer, wenn man bedenkt, daß in Gegenwart von Wasser die Phosphatide bzw. die Lipoide sehr schwer und sehr unvollständig extrahiert werden können.

Ein weiterer Nachteil der gewöhnlichen Natriumsulfattrocknung besteht darin, daß sich das wasserfreie Natriumsulfat während des Erstarrungsvorganges leicht mit dem krystallisierten Glaubersalze überziehen kann, weshalb Fränkel[2]) ca. 10% mehr als die berechnete Menge des wasserfreien Natriumsulfates zusetzt, wodurch das Material unnötigerweise schwerer wird.

Schließlich sei noch folgender Nachteil erwähnt. Es ist schwer, die Substanz nach dem Auskrystallisieren mit Glaubersalz in größeren Mengen sehr fein zu pulvern, und man hat viele große Krystalle vor sich, so daß die Extraktion sehr lange dauert [Fränkel[3])].

Um diese Nachteile, die die bisherige Methode nicht sehr für ihren Zweck geeignet machen, auszuschließen, verfahre ich folgendermaßen:

Das Material wird (am besten in einem Brutschranke) in einer Reibschale auf Körpertemperatur (ca. 40°) erwärmt. Bei dieser (jedenfalls oberhalb 33° liegender) Temperatur setzt man nach und nach unter ständigem und energischem Umrühren mit dem Pistill die berechnete Menge (für 1 g Wasser ca. 0,79 g Na_2SO_4) wasserfreien Natriumsulfates hinzu[4]). Das Salz löst sich bei dieser Temperatur im (aus dem bearbeiteten Materiale stammendem) Wasser auf, wobei dem Salze Gelegenheit geboten wird, in gelöstem Zustande in alle Poren bzw. Zellen hineinzudringen. Jetzt stellt man die Reibschale in kaltes Wasser,

---

[1]) Besonders auffallend tritt das bei den Extraktionsmitteln vor, die sich nicht mit Wasser mischen (z. B. Chloroform).

[2]) Diese Zeitschr. 28, 331, 1910; 40, 138, 1912.

[3]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, l. c.; diese Zeitschr. l. c.

[4]) Es ist gar nicht notwendig, das käufliche Natriumsulfat (Kahlbaum) zu glühen, wie das z. B. Fränkel (l. c) vorgeschlagen hat, da das Salz gar nicht hygroskopisch ist. Zur Sicherheit extrahiert man vor der Anwendung das Natriumsulfat mit den in Frage kommenden Extraktionsmitteln und trocknet es im gewöhnlichen Wasserdampftrockenschrank.

das man nach Bedarf wechselt, und bearbeitet die Masse mit dem Pistill weiter, bis dieselbe die Umgebungstemperatur angenommen hat. Wenn die Temperatur unter 33° gesunken ist, bildet sich Glaubersalz ($Na_2SO_4 + 10 H_2O$) und die Masse wird fest. Das schnelle Abkühlen und Umrühren hat den Zweck, die Bildung großer Glaubersalzkrystalle zu verhindern. Das resultierende, noch etwas feuchte Pulver wird in dünnen Schichten in einen möglichst stark evakuierten Vakuumexsiccator über eine genügende Menge konzentrierter Schwefelsäure[1]) [für je 100 g Wasser ca. 300 ccm Schwefelsäure[2]), spez. Gew. 1,8] gebracht. Nach öfterem Umrühren und Zerreiben des Pulvers und wiederholtem Evakuieren verwittert das Krystallwasser in kurzer Zeit bis auf einige Zehntel Prozent[3]). So lange die Masse noch etwas Wasser enthält, zeigt sie eine griesige[4]) Beschaffenheit; nachdem das Wasser vollständig verwittert ist, zerfällt die Masse gewöhnlich in ein feines, mehliges Pulver. Die so vorbereitete Masse besteht jetzt außer der Trockensubstanz des in Frage kommenden Materials nur noch aus wasserfreiem Natriumsulfat, das in gewöhnlichen wasserfreien Extraktionsmitteln unlöslich ist. Bei diesem Verfahren erleidet somit die Masse nicht nur keine Beschwerung (von ca. 50—60%), wie das bei der Fränkelschen Natriumsulfat- bzw. Natriumphosphatmethode der Fall ist, sondern eine bedeutende Verminderung des Gewichtes (bis zu 20%).

Folgende Versuche sollen als Belege für die Brauchbarkeit der Methode dienen.

Versuch 1[5]).

50 ccm Wasser + 89,4 g Natriumsulfat wurden, wie angegeben, verarbeitet. Der Wassergehalt des Gemisches berechnet sich auf 55,8%.

---

[1]) Andere Entwässerungsmittel (Phosphorsäure, entwässertes Kalihydrat usw.) haben keinen Vorteil, da sie in der Anziehung zum Wasser keinen wesentlichen Unterschied zeigen (Müller-Erzbach, Chem. Centralbl. 1881, 417), außerdem sind sie teurer als technische Schwefelsäure.

[2]) Dammer, l. c. 1, 639.

[3]) Durch andauerndes Umrühren des Pulvers im Vakuum könnte man das Verwittern des Krystallwassers eventuell beschleunigen.

[4]) Die Verwitterung geht schneller vor sich, wenn man durch Absieben durch ein feines Sieb und durch weitere Zerkleinerung des Rückstandes für eine möglichst feine Beschaffenheit des Pulvers sorgt.

[5]) In Ermangelung einer Wasserstrahlluftpumpe verwendete ich eine Kolbenluftpumpe, die aber nur bis ca. 100 mm arbeitet. Um das

Nach 12stündigem Stehen im evakuierten Exsiccator sank der Wassergehalt auf 9,07 %, nach 36 Stunden auf 0,04 %.

Versuch 2.

100 g Magermilch (91,0 % Wasser) + 71,8 g Na_2SO_4. Wassergehalt des Gemisches (ber.) = 52,9 %. Nach 9stündigem Stehen im evakuierten Exsiccator H_2O = 41,26 %; nach 24 Std. H_2O = 28,0 %; nach 30 Std. H_2O = 21,14 %; nach 72 Std. H_2O = 0,62 %.

Versuch 3.

50 g Vollmilch (87,82 % Wasser) = 34,7 g Na_2SO_4. Wassergehalt des Gemisches (ber.): 51,8 %. Nach 8 Std. im evakuierten Exsiccator H_2O = 47,42 %; nach 20 Std. H_2O = 43,94 %; nach 33 Std. H_2O = 1,15 %; nach 81 Std. H_2O = 0,17 %.

Versuch 4.

41 g Hühnereigelb (50,77 % Wasser) + 17 g Na_2SO_4. Wassergehalt des Gemisches (ber.); 35,8 %. Nach 24 Std. im evakuierten Exsiccator H_2O = 5,75 %; nach 48 Std. H_2O = 1,54 %; nach 72 Std. H_2O = 0,73 %; nach 96 Std. H_2O = 0,27 %.

Versuch 5.

100 g fein zerhacktes Kalbsgehirn (78,32 % Wasser) + 61,8 g Na_2SO_4. Wassergehalt des Gemisches (ber.): 48,42 %. Die Masse stand 12 Std. frei an der Luft; nach 24 Std. im Vakuumexsiccator H_2O = 11,36; nach 48 Std. H_2O = 0,55 %.

Versuch 6.

100 g fein zerhacktes Rindfleisch (76,63 % Wasser) + 60,5 g Na_2SO_4. Wassergehalt des Gemisches (ber.): 47,77 %. Nach 48 Std. (im gew. Exsiccator) H_2O = 33,37 %; nach weiteren 48 Std. im evak. Exsiccator H_2O = 1,42 %.

Demnächst sollen die Untersuchungen über die Bestimmung der Phosphatide in der Milch veröffentlicht werden; außerdem befasse ich mich mit der Ausarbeitung einer Methode zur Bestimmung der Trockensubstanz in tierischen oder pflanzlichen Flüssigkeiten, Organen usw., wobei das beschriebene Trocknungsverfahren verwendet werden soll.

Vakuum (auf nur einige Millimeter) zu erhöhen, bediente ich mich der chemischen Methode (mit Äther) nach Benedict und Manning (Chem. Centralbl. 1, 1391, 1902) und Gore (Chem. Centralbl. 2, 653, 1906). Selbstverständlich mußte ich deswegen bei meinen Versuchen größere Mengen Schwefelsäure verwenden, als oben angegeben. Da nach Gore (l. c.) bei so evakuierten Exsiccatoren geringe Tendenz zur Bildung von Säuredämpfen (SO_2) beobachtet wird, befand sich bei allen Versuchen eine genügende Menge festes NaOH im Exsiccator.

Untersuchungen zur Blutgerinnung beim Menschen.

Von

J. von Angyán und R. von den Velden.

(Aus der Düsseldorfer medizinischen Klinik.)

(Eingegangen am 16. Juni 1912.)

Mit 1 Figur im Text.

Bevor die Mitteilung unserer Versuchsergebnisse erfolgt, erscheint es angebracht, auf die immer noch bestehende, in letzter Zeit sogar wieder zunehmende Verwirrung auf dem Gebiete der Lehre von der Blutgerinnung kurz einzugehen. Während für die Mehrzahl der Autoren seit den Arbeiten von Alexander Schmidt und seiner Schule die fermentative Natur des Gerinnungsprozesses als feststehende Tatsache galt, neigt man heute wieder der Ansicht zu, daß es sich hier mehr um eine chemische Reaktion handelt, und zwar glaubt man, auf entsprechenden Untersuchungen fußend, diesen ganzen Prozeß in das Gebiet der Kolloidchemie verweisen zu müssen. Morawitz[1]), der sich um die historische Erforschung, wie die weitere Ausarbeitung der Gerinnungslehre besonders bemüht hat, entscheidet sich in seiner zusammenfassenden Darstellung in Oppenheimers Handbuch der Biochemie ebenfalls für die fermentative Natur des Gerinnungsaktes; läßt jedoch in jüngster Zeit durch Stromberg[2]) die Anschauung entwickeln, daß der ganze Gerinnungsakt mit einiger Bestimmtheit nicht als eine fermentative Reaktion aufzufassen sei.

Die Fortschritte der Chemie haben nun schon im Laufe der letzten Jahre für manche Vorgänge, über die wir bislang mangels einer anderen Erklärung fermentative Vorstellungen hatten, die nichtfermentative Natur erwiesen.

---

[1]) Morawitz, Ergebnisse d. Physiol. 4, 307. Handb. d. Biochem. v. Oppenheimer 2, 2.

[2]) Stromberg, diese Zeitschr. 37, 177.

So hat Heffter[1]) gezeigt, daß die Reduktion des Methylenblaus, des Schwefels, der Telluroxyde usw. durch tierische und pflanzliche Zellen keine Fermentwirkungen sind, sondern daß es sich um Reduktionen handelt, die durch den in der Sulfhydrylgruppe eiweißartiger Stoffe befindlichen leicht beweglichen Wasserstoff ausgeübt werden.

Mag vielleicht auch das Loos des Thrombins als eines Fibrinfermentes ein ähnliches sein, und mag auch der Gerinnungsvorgang als ein rein chemischer Prozeß erwiesen werden, wofür ja hauptsächlich die Fortschritte der Kolloidchemie aussichtsreich erscheinen, so wird doch an den Resultaten der vorliegenden Untersuchungen, wie auch aller jener nichts geändert werden, die exakte Daten, über die Veränderung der Gerinnungsgeschwindigkeit, im Laufe der letzten Jahre zu geben vermochten.

Bei der Gerinnung spielen zwei Faktoren eine wichtige Rolle; auf der einen Seite das Fibrinogen, ein im Blut gelöst vorhandener Eiweißkörper, und auf der anderen Seite das hypothetische „Thrombin", das sogenannte Fibrinferment. Wollen wir eine Beeinflussung des Gerinnungsvorganges vornehmen, so können wir dies dadurch tun, daß wir einen dieser beiden Faktoren, oder auch beide zu ändern suchen. Frühere, größtenteils schon veröffentlichte Versuche des einen von uns [von den Velden[2])]zeigten, daß man derartige Beeinflussungen in akuter Weise auf die Gerinnungsschnelligkeit des Blutes auszuüben vermag. Ihre Wirkung hat sich in der Änderung der Schnelligkeit der Gerinnung des capillaren, wie auch des venösen Blutes in zahlreichen Versuchen am Mensch, wie auch am Tier, einwandsfrei erweisen lassen und es lag damals, wie auch z. T. heute noch nahe, im Verfolg der bisher herrschenden Anschauungen diese akuten Veränderungen auf fermentativem Wege zu erklären, d. h. also durch eine Beeinflussung des „Thrombins", wobei von den Velden an eine rein mechanische Mobilisierung der sogenannten Thrombokinase, eine Ausschwemmung aus dem Gewebe in das Blut hinein, dachte. Da die von ihm beschriebenen gerinnungsbeschleunigenden Maßnahmen samt und sonders eine verschiedengradige Ände-

---

[1]) Heffter, Medizin.-naturw. Arch. **1**, 81.

[2]) von den Velden, Verhdl. d. Kongr. f. inn. Med. **1909** u. **1911**; Ther. Monatsh. **1911**.

rung des physikalisch-chemischen Milieus bewirken, wäre eine Vorstellung der Beeinflussung des Gerinnungsvorganges von der kolloid-chemischen Seite aus auch sehr wohl möglich.

Im Verfolg der früheren Arbeiten erschien es von Interesse, das Verhalten des sogenannten Thrombins und des Fibrinogens zunächst bei den akut hervorgerufenen Änderungen der Gerinnungsschnelligkeit zu verfolgen, nachdem die bisherigen Untersuchungen nur die Tatsache der verkürzten Gerinnungszeit, die Konzentrationsschwankungen des Blutes und den Fibringehalt näher berücksichtigt hatten. Wohlgemuth[1]) hat vor kurzem eine Methode angegeben, die für unsere Zwecke geeignet erschien, wenn auch a priori einige Bedenken gegen ihre Anwendung bestehen mußten, z. B. daß man bei diesen Thrombinbestimmungen nur den Gehalt des Blutserums an Thrombin und nicht den des nativen Blutes bestimmen kann. Bei der Trennung des Serums von den anderen Blutbestandteilen, wobei der Gerinnungsvorgang unvermeidlich ist, kann bekanntermaßen durch Koagulum Thrombin absorbiert werden, und zwar in Mengen, die in den einzelnen Fällen ganz verschieden groß sein können. Weiter kann die Bildung des Metathrombins, ebenso wie die Fibrinolyse desgleichen, wie Morawitz schon betont hat, unberechenbare Fehlerquellen einführen[2]).

Wie wir jedoch des weiteren zeigen können, ergab trotz dieser Einwände und Bedenken diese Methodik bei streng gleichartig beibehaltener Versuchsanordnung brauchbare Vergleichswerte.

Bei einer zweiten Versuchsreihe, die eine Beeinflussung des Fibrinogengehaltes des Blutes bezweckte, haben wir die biologische Methode mit der chemischen quantitativen zum Nachweis des Fibrinogens vereint und damit auch erstere zu kontrollieren versucht, was bisher noch ausstand; allerdings bleibt es noch in suspenso, ob uns diese beiden Methoden dieselben Substanzen liefern, wodurch der Vergleich der auf diesen beiden Wegen gewonnenen Resultate erschwert wird.

---

[1]) Wohlgemuth, diese Zeitschr. 25, 79.

[2]) Während der Abfassung dieser Arbeit erschien die schon oben zitierte Abhandlung von Stromberg, die eine ausführliche Kritik der W.schen Methoden bringt, so daß wir uns hier auf diese kurz angeführten Hauptdaten beschränken können.

Der Plan für unsere Untersuchungen war zunächst die Gerinnungsfähigkeit des Blutes, wie wir sie extravasculär mit der Bürkerschen Methode im Capillarblut bestimmten, durch akute Eingriffe zu erhöhen, d. h. den Zeitpunkt bis zum Auftreten des ersten Fibrinfadens zu verkürzen, und zwar einerseits durch sogenannte Verdünnungsversuche, bei denen wir also durch Abbinden der Glieder und durch Injektion einer hypertonischen Kochsalzlösung eine Hydrämie hervorriefen; weiter durch Zuführung von Radiumemanation. An zweiter Stelle versuchten wir durch Injektion von Pepton und Serum Veränderungen der Zusammensetzung des Blutes nach der Seite des Fibrinogengehaltes hervorzurufen; Versuche, die im Gegensatz zu obigen als chronische zu bezeichnen wären.

Methodik.

Die Wohlgemuthsche Methode, wie sie bei W. und bei Küster[1]), der diese Methode als erster klinisch zu verwerten suchte, beschrieben steht und auf deren Arbeiten wir betreffs der Einzelheiten hinweisen, wurde streng befolgt. Wir verwandten zur Bestimmung des Thrombingehaltes Kaninchenmagnesiumsulfatplasma 1:3, das wir im Eisschrank aufbewahrten und das unmittelbar vor dem Ansetzen des Versuches mit 1%iger kalkfreier Kochsalzlösung 10fach verdünnt wurde. Das Blut wurde dem Patienten ohne Stauung mit trocken sterilisierter Hohlnadel aus einer Armvene entnommen, in Zentrifugengläschen aufgefangen, nach Gerinnung von der Glaswand getrennt, zentrifugiert, das Serum abgehoben und neun Reagenzröhrchen sofort mit absteigenden Mengen des Serums beschickt (1,0, 0,5, 0,125, 0,0625, 0,032, 0,016, 0,008, 0,004). Die Verdünnung und der Ausgleich der Volumdifferenzen geschah mit 1%iger kalkfreier Kochsalzlösung. Sodann gaben wir je 2 ccm des verdünnten Kaninchenmagnesiumsulfatplasmas zu und setzten die Reihe auf 24 Stunden in den Eisschrank.

Zur Bestimmung des Fibrinogengehaltes wurden 4 ccm Menschenblut zu 1 ccm 20%iger Magnesiumsulfatlösung zugesetzt, durchgemischt, abgekühlt und zentrifugiert, das Plasma abgehoben und neun Gläschen mit absteigenden Mengen beschickt (0,125, 0,0625, 0,032, 0,016, 0,008, 0,004, 0,002, 0,001, 0,0005). Die Volumdifferenzen wurden mit 1%iger Kochsalzlösung ausgeglichen. Als „Thrombin" verwandten wir immer frisch aus der Ohrvene eines Kaninchens gewonnenes Blut, dessen Serum im Verhältnis 1:20 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und wovon je 2 ccm in jedes Röhrchen gefüllt wurden. Nach Zusatz des Thrombins wurde die Reihe auf 24 Stunden in den Eisschrank gesetzt. Es wurde steril und chemisch rein gearbeitet. Bei

---

[1]) Küster, Habilitationsschr. Breslau **1911**.

der Ablesung der Resultate fanden wir es vorteilhaft, die Röhrchen, in denen keine komplette Gerinnung eingetreten war, nicht nur durch Neigen auf den Zustand ihres Inhaltes zu prüfen, sondern auch leicht zu schütteln, wobei sich die vorhandenen geronnenen Flocken zusammenballen, die wir dann nach ihrer Größe bezeichneten; und zwar verwandten wir folgende Bezeichnungen: „Komplett (k.), fast komplett (f. k.), großes Gerinnsel (g. G.), kleines Gerinnsel (k. G.), Faden (F.)".

Nach Wohlgemuths Vorgehen setzten wir jene Serummenge als Einheit, die noch imstande war, erkennbares Gerinnsel zu erzeugen und berechneten dann die Fibrin-Ferment-Einheiten (F. F.) in 1 ccm Serum. In unseren Versuchsangaben und Tabellen finden sich die F. F. und die ähnlich berechenbaren Fibrinogen-Einheiten (F.-G.) angegeben; jedoch sind u. E. zur Beurteilung nicht nur die Endwerte, sondern auch der Verlauf in der ganzen Reihe d. h. die einzelnen Gerinnungsstufen zu betrachten. Wären z. B. zwei Bestimmungsergebnisse zu vergleichen wie in Versuch 1, deren F.-F. zwar die gleiche Zahl hat, die aber Unterschiede in den einzelnen Stufen zeigen, so müssen wir dies als den quantitativen Ausdruck einer Verschiedenheit auffassen und können das am besten in folgender graphischer Form darstellen:

Versuch 1.

Röhrchen	Serum I	Serum II
1	k.	k.
2	k.	k.
3	k.	k.
4	f. k.	k.
5	g. G.	k.
6	k. G.	g. G.
7	f.	k. G.
8	—	—
9	—	—

Fig. 1.

≣ Serum 1.
|||| Serum 2.

Man kann natürlich die mit dieser Methode gewonnenen Fibrinogen- und Thrombin-Werte, oder Fibrinogen- und Fibrinferment-Einheiten, wie sie Wohlgemuth nennt, nicht als absolute Werte verwenden. Es ist sicher anzunehmen, daß bei den einzelnen normalen Individuen hierin Unterschiede bestehen, und wir fügen folgende Übersichtstabelle I und II an, um zu zu zeigen, welche Verschiedenheiten sich in dieser Beziehung bei sonst gesunden Menschen mit normaler

capillarer Gerinnungsfähigkeit zeigen können, und welche Resultate sich bei verkürzter Gerinnungszeit ergeben.

Übersichtstabelle I.

Nr.	Cap.	G. F.	F. f.	F. g.
1	3′ 45″	3′ 30″	4	500
2	4′	4′	8	500
3	4′ 30″	4′ 30″	16	500
4	4′	4′ 5″	16	250
5	3′ 30″	3′ 20″	16	125
6	4′	3′ 50″	31,2	125
7	4′ 10″	4′ 15″	31,2	250
8	3′ 45″	3′ 50″	62,5	1000
9	3′ 30″	3′ 30″	62,5	500
10	3′ 45″	3′ 45″	62,5	500

Übersichtstabelle II.

Nr.	Cap. G. F.	F. f.	F. g.
1	2′ 5″	8	250
2	2′ 5″	8	125
3	2′ 35″	16	500
4	2′	31,2	62,5
5	1′ 30″	62,5	250
6	2′ 15″	62,5	500
7	1′ 45″	125	125
8	1′ 30″	250	500
9	Typhus	8	500
10	Pneumonie	250	500

Tabelle I zeigt lauter normale Fälle, d. h. solche, bei denen die Cap. Gerinnungszeit in der normalen Breite liegt. Die Werte von F. f. und F. g. im venösen Blut schwanken von 4 bis 62,5 resp. 125 bis 1000 und lassen auch unter sich keine Konstanz der Beziehungen erkennen.

In Tabelle II sind Fälle aufgeführt, bei denen die Cap. G. F. stark herabgesetzt ist, ohne daß man dabei aus den einzelnen F. f. oder F. g. Werten etwas schließen könnte. Unter 9 und 10 sind als Beispiele zwei Erkrankungen aufgeführt, von denen die Pneumonie mit einer sogen. Hyperinose, einer Fibrinogenvermehrung einhergeht.

Unsere Ansprüche lagen jedoch nicht in dieser Richtung der absoluten Werte, da wir nur Vergleichswerte in parallel angelegten Versuchsreihen zu gewinnen wünschten; wir betonen aber, daß durch diese Reihendarstellung nach der W.schen Methode über das Wesen des Gerinnungsprozesses zunächst noch keine Klarheit gegeben wird.

Die chemische Methode der Fibrinogenbestimmung soll bei den entsprechenden Versuchen weiter unten mitgeteilt werden. Alle unsere Versuche wurden an blutgesunden Patienten der Klinik vorgenommen.

I. Akute Beeinflussungen des Gerinnungsaktes.

A. Kochsalzversuche.

Zunächst wurde die capillare G.-Z. an der rechten, wie an der linken Hand mit Hilfe der Bürkerschen Methode bestimmt. Dann erfolgte ohne Stauung und stärkere lokale desinfizierende Prozeduren aus der Armvene die Blutentnahme

zur Bestimmung des Brechungsindex, des Thrombin- und Fibrinogengehaltes. Hierauf wurden 5 ccm einer körperwarmen 5%igen Kochsalzlösung intravenös eingespritzt. Nach etwa 10 Minuten zeigte sich an der capillaren G.-Z. in jedem Falle die typische Verkürzung, nach deren Feststellung die zweite Blutentnahme in der gleichen Weise aus der Vene erfolgte. Wir geben im folgenden tabellarisch ein Protokoll dieser Untersuchungen wieder.

Versuch 2.

Protokoll 6. 9. XI. 1911.

Zeit	Cap.-G.-Z. rechts	Cap.-G.-Z. links	Refraktion	F.-F.	F.-G.	Bemerkungen
9h 45′	—	4′ 10″	—	—	—	
9h 50′	4′ 15″	—	—	—	—	
9h 55′	—	—	59,2 (1,349 916)	31,2	250	Blut aus r. Vena cubitalis
9h 58′	5 ccm 5%ige NaCl-Lösung in linke Armvene injiziert.					
10h 1′	3′ 45″	—	—	—	—	
10h 5′	3′ 15″	—	—	—	—	
10h 10′	—	2′ 45″	58,4 (1,349 638)	16	125	Blut aus r. Vena cubitalis
10h 20′	3′	—	—	—	—	
10h 30′	—	4′	—	—	—	

Versuch 3.

Thrombinbestimmung 6.

Versuch 4.

Fibrinogenbestimmung 6.

Nr. des Röhrchens	Serummenge ccm	Kan.-MgSO₄-Plasma ccm	Gerinnung nach 24 Std. vor NaCl	Gerinnung nach 24 Std. nach NaCl	F.-F.-Einheiten	Nr. des Röhrchens	Plasmamenge ccm	Kan.-Serum ccm	Gerinnung nach 24 Std. vor NaCl	Gerinnung nach 24 Std. nach NaCl	F.-G.-Einheiten
1	1,0	2	k.	k.		1	0,125	2	k.	k.	
2	0,5	2	k.	k.	vorher	2	0,0625	2	k.	f. k.	vorher
3	0,25	2	k.	k.	**31,2**	3	0,032	2	f. k.	g. G.	**250**
4	0,125	2	k.	k.		4	0,016	2	g. G.	k. G.	
5	0,0625	2	g. G.	g. G.		5	0,008	2	k. G.	f.	
6	0,032	2	f.	—		6	0,004	2	f.	—	nachher
7	0,016	2	—	—	nachher **16**	7	0,002	2	—	—	**125**
8	0,008	2	—	—		8	0,001	2	—	—	
9	0,004	2	—	—		9	0,0005	2	—	—	

Wir ersehen also aus diesem Protokoll, daß nach der Einspritzung der Kochsalzlösung in die Vene eine deutliche Verringerung des Refraktionswertes eintritt [in Übereinstimmung

mit unseren früheren Untersuchungen[1]) über die Veränderung der Trockensubstanz usw.] und wir müssen daher wohl auch die Abnahme der F.-F.- und F.-G.-Einheiten ebenfalls als eine Folge dieser auf die Einspritzung folgenden histogenen Hydrämie auffassen. Gleichzeitig findet sich die ausgesprochene Steigerung der capillaren Gerinnungsfähigkeit, die wir, wie entgegen den Strombergschen Untersuchungen am Kaninchen besonders betont werden soll, für den Mensch als typisch bezeichnen müssen (2 bis 3 °/₀ Versager).

Wir geben im folgenden in Form einer kurzen Übersichtstabelle (III) die in drei derartigen Kochsalzversuchen gewonnenen Hauptdaten kurz wieder.

Übersichtstabelle III.

Versuche	1	2	3
Cap. G.-F. vor Injektion . . .	4′ 15″	3′ 30″	3′ 45″
„ „ nach „ . . .	2′ 45″	2′	2′ 45″
Refraktion vor „ . . .	59,2 1,349916	57,9 1,349433	58,5 1,349655
„ nach „ . . .	58,4 1,349638	58,4 1,349638	58,6 1,349692
F.-F. vor „ . . .	31,2	16	62,5
„ nach „ . . .	16	31,2	62,5
F.-G. vor „ . . .	250	31,2	500
„ nach „ . . .	125	62,5	500

Wie aus diesen Daten ersichtlich, folgen hier die F.-F.- und F.-G.-Werte stets den zu der Zeit im Venenblut herrschenden Konzentrationsverhältnissen. Sie sinken, steigen oder bleiben unverändert gleichsinnig dem Sinken, Steigen oder unverändertem Bestehen der Refraktion des Blutserums. Daß nicht stets bei der einen Blutententnahme aus der Vene eine Blutverdünnung zu konstatieren ist, soll an dieser Stelle nicht des näheren erörtert werden. In allen Versuchen war die Erhöhung der capillaren Gerinnungsfähigkeit eklatant.

---

[1]) von den Velden, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 290.

B. Abbindungsversuche.

Die Verkürzung der Gerinnungszeit im capillaren, wie auch im venösen Blute des Rumpfkreislaufes nach ausgedehnter Gliederabbindung hat der eine von uns [von den Velden[1])] in zahlreichen Versuchen nachgewiesen. In dem folgenden Versuchsprotokoll und der anschließenden Übersichtstabelle IV dreier derartiger Abbindungsversuche findet sich das Verhalten der capillaren Gerinnungszeit, der Refraktion des Serums und der F.-F.- wie F.-G.-Einheiten wiedergegeben.

Versuch 5.

Protokoll 10. 14. XI. 1911.

Zeit	Cap. G.-F. rechts	Cap. G.-F. links	Refraktion	F.-F.	F.-G.	Bemerkungen
$10^h\ 5'$	4′ 30″	—	—	—	—	Umfang: rechter Arm 21,5, linker Arm 22,0 cm; rechte Wade 30,5, linke Wade 31,5 cm
$10^h\ 10'$	—	4′ 30″	—	—	—	
$10^h\ 15'$	—	—	60,95 1,350543	16	500	Blut aus rechter Vena cubital.
$10^h\ 19'$	Abbindung beider Beine und des rechten Armes					
$10^h\ 29'$	—	2′ 5″	—	—	—	
$10^h\ 40'$	—	—	60,20 1,350286	8	250	Blut aus linker Vena cubitalis
$10^h\ 45'$	—	2′	—	—	—	Umfang: rechter Arm 23 (+1½), linker Arm 22,0 cm; rechte Wade 32 (+1½), linke Wade 32,5 (+1,0) cm
$10^h\ 46'$	Binden weg					
$10^h\ 55'$	—	3′ 45″	—	—	—	

Übersichtstabelle IV.

Versuche	1	2	3
Cap. G.-F. vor Abbinden . . .	4′ 30″	3′ 30″	4′ 30″
„ „ nach „ . . .	2′	1′ 50″	2′ 35″
Refraktion vor „ . . .	60,95 1,350543	63,1 1,351357	59,5 1,350025
„ nach „ . . .	60,2 1,350286	58,9 1,349803	60,0 1,350210
F.-F. vor „ . . .	16	62,5	16
„ nach „ . . .	8	8	16
F.-G vor „ . . .	500	500	500
„ nach „ . . .	250	125	500

Auch diese Protokolle lehren, wie das aus unseren früheren Arbeiten schon hervorging, daß sich in dem nicht abgeschnürten

[1]) von den Velden, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 8, 483.

Teil des Kreislaufes bei entsprechend ausgedehnter Abbindung eine Blutverdünnung etabliert, und auch hier sehen wir parallel dieser Konzentrationsänderung die Verschiebung der F.-F.- und F.-G.-Werte im Serum des Venenblutes. In Analogie zu den Kochsalzversuchen erschien früher auch bei diesen Prozeduren der Grund für die Verkürzung der Gerinnungszeit in der histogenen Hydrämie und der damit veranlaßten Ausschwemmung eines gerinnungsbefördernden Momentes aus dem Gewebe in die Blutbahn wahrscheinlich. Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß unter den hier vorliegenden Verhältnissen auch noch andere Momente eine Rolle spielen können, da unter diesen veränderten Kreislaufverhältnissen Verschiebungen der Blutgasspannung sehr wohl möglich sind, deren Einfluß auf die Chemie der Blutgerinnung nicht von der Hand zu weisen sein dürfte.

C. Radium-Emanationsversuche.

Wir müssen hier bezüglich der näheren Daten der durch Radiumemanation veranlaßten Beschleunigung des Gerinnungsaktes auf die entsprechende ausführliche Arbeit verweisen[1]). Sowohl um zu versuchen, ob sich diese in ihrer Dynamik noch nicht geklärten Fragen der Wirkung der Radium-E. auf den Gerinnungsakt auf diesem Wege weiter fördern ließen als auch um die Brauchbarkeit der Wohlgemuthschen Methode weiter zu prüfen, stellten wir folgende Versuche an:

Nach Feststellung der Konstanz der Gerinnungsfähigkeit und nach der venösen Blutentnahme wurden drei Fläschchen Radiogenwasser = 1000 ME körperwarm verabreicht. Durch Verfolgung der capillaren Gerinnungszeit wurde auch hier der Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme bestimmt.

Im folgenden geben wir ein ausführliches Protokoll und eine Übersichtstabelle (V) der Hauptresultate der in 5 ähnlichen Versuchen gewonnenen Werte.

Man erkennt aus diesen Protokollen einen deutlichen Einfluß, den die in dem Radiogenwasser enthaltene Radiumemanation nach ihrer Resorption vom Magen-Darmkanal aus auf die F.-F.-Einheiten ausübt und der außerhalb

[1]) von den Velden, Arch. f. klin. Med. 1912.

Versuch 6.

Protokoll 14. 20. XI. 1911.

Zeit	Cap. G.-F. rechts	Cap. G.-F. links	F.-F.	F.-G.	Bemerkungen
4h 50′	3′ 30″	—	—	—	
4h 55′	—	3′ 20″	—	—	
5h	—	3′ 20″	—	—	
5h 5′	—	—	16	125	Blut aus r. Vena cubitalis
5h 20′	3 Fläschchen Radiogenwasser per os = 1000 ME				
5h 30′	—	1′ 45″	—	—	
5h 40′	—	—	125	125	Blut aus l. Vena cubitalis
5h 42′	1′ 50″	—	—	—	

Übersichtstabelle V.

Versuche	1	2	3	4	5
Cap. G.-F. vor R.-Emanation	4′ 5″	3′ 30″	3′ 45″	4′	3′ 45″
„ „ nach „	1′ 30″	1′ 45″	2′	2′ 15″	1′ 30″
F.-F. vor „	16	16	4	8	62,5
„ nach „	62,5	125	4	62,5	250
F.-G. vor „	250	125	500	500	250
„ nach „	250	125	500	500	250

jeder Fehlerquelle liegt. Eine Erklärung dieses Befundes läßt sich heute in sicherer Weise noch nicht geben. Nur soviel läßt sich sagen, daß eine quantitative Vermehrung des „Thrombins“ wohl kaum anzunehmen ist und daß man am ehesten noch daran denken könnte, daß in irgendeiner Weise, sei es an dem Thrombin selber, sei es durch Veränderung des Milieus, eine Erhöhung der Wirksamkeit zustande gekommen ist. Das würde sich auf der einen Seite mit der Auffassung des Thrombins als eines Fibrinferments, andererseits aber auch mit physikalisch-chemischen Ansichten in Einklang bringen lassen können.

Es bedarf der Befund in dem 3. Versuch, wie wir ihn für die F.-F.-Einheiten angegeben haben, einer kurzen Erläuterung. Es hat sich nämlich in dieser Versuchsreihe bei Anwendung der W.schen Methode eine eigentümliche Erscheinung gezeigt, die auch Küster in seiner Habilitationsschrift erwähnt und die er als „gestörte Reihe“ bezeichnet. Wir fügen umstehend das detaillierte Protokoll dieses Befundes hier ein.

Es zeigt sich hier, daß in den entsprechenden Röhrchen 1 und 2 Gerinnung zu konstatieren ist, die in der 2. Reihe, also nach Radiumverabreichung, stärker erscheint, jedoch tritt dann plötzlich in der Reihe 1 bei Röhrchen 6 ein großes Gerinnsel auf. Eine genaue

Versuch 7.
Protokoll 14.

Röhrchen-Nummer	Serum	Kan.-$MgSO_4$-Plasma ccm	Gerinnungen vor	Gerinnungen nach
1	1,0	2,0	f.-K.	K.
2	0,5	2,0	f.	K. G.
3	0,25	2,0	—	—
4	0,125	2,0	—	—
5	0,0625	2,0	—	—
6	0,032	2,0	g. G.	—
7	0,016	2,0	—	—
8	0,08	2,0	—	—
9	0,04	2,0	—	—

Kontrolle hat uns gezeigt, daß Fehler in der Zusammensetzung nicht vorgelegen haben. Es wäre nur anzuführen, daß die Versuchsreihe mit dem etwas getrübten Rest unseres Kaninchenmagnesiumsulfatplasmas angestellt worden war.

Die Bestimmungen der F.-G.-Einheiten zeigten, daß nach der Radiumemanationzufuhr weder eine Ab- noch eine Zunahme eintrat, während in allen Protokollen in der eindeutigsten Weise die schon früher beschriebene deutliche Verkürzung der capillaren Gerinnungszeit einsetzte. Wir enthalten uns zunächst noch in dieser strittigen Frage jeder weiteren Diskussion dieser Resultate, die insofern mit dem schon früher Mitgeteilten übereinstimmen, als Verschiebungen der F.-G.-Einheiten, die im Sinne einer Verdünnung oder Verdichtung des Blutes aufgefaßt werden könnten, auch hier nicht vorliegen Wir haben es hier also wohl mit einem ganz anderen Mechanismus der Einwirkung auf den Ablauf des Gerinnungsvorganges zu tun, als bei den anderen akuten Versuchen[1]).

Die **Zusammenfassung** der Resultate unserer hier mitgeteilten Versuche bei akuter Beeinflussung der Gerinnungszeiten ergibt folgendes: Zunächst müssen wir gegenüber anderslautenden Angaben ausdrücklichst hervorheben, daß wir Maßnahmen besitzen, um in akuter Weise (wie dies in den früheren Arbeiten in ausgedehnter Form mitgeteilt wurde), die Gerinnungszeit des capillaren Blutes zu beeinflussen. Wir berufen uns hier bei

[1]) Nachtrag bei der Korrektur: Unterdessen hat sich nachweisen lassen, daß man diese Emanationswirkungen auch mit anderen respirablen Gasen an der Blutgerinnung ausüben kann. v. d. V.

voller Kenntnis und Würdigung der gegen die verschiedenen Methoden erhobenen Einwände auf die auffallende Konstanz unserer Werte. Bei diesen akuten Beeinflussungen, die z. T. sicher mit der Mobilisierung histogener Faktoren einhergehen, zeigt sich der Thrombin- wie auch der Fibrinogengehalt (nach W. bestimmt) miteinander und mit den Konzentrationsänderungen des kreisenden Blutes parallel gehend. Wir können also auch nach diesen Maßnahmen an den beiden Hauptfaktoren des Gerinnungsvorgangs Verdünnungseffekte im Venenblut konstatieren, die sehr gut mit den früheren Resultaten der Blutuntersuchungen (der Verminderung der Fibrinmenge usw. bei gleichzeitiger erhöhter capillarer G.-F.) übereinstimmen. Nach unseren bisherigen Vorstellungen über den ganzen Vorgang der Blutgerinnung ist uns dies für das Fibrinogen verständlich, während es für das Thrombin eigentlich auffallend ist; denn das Thrombin ist schließlich das einzige Moment, das in seiner Wirkungsstärke durch die nach u. E. infolge der verschiedenen Maßnahmen mobilisierten fördernden Faktoren, z. B. die Thrombokinase, erhöht wird.

Man müßte nach diesem Befund also annehmen, daß bei der von uns gewählten Versuchsanordnung das sog. „Fibrinferment" bei eklatant verkürzter Gerinnungszeit im capillaren Blut, im Venenblut nicht vermehrt zu erscheinen braucht; immer vorausgesetzt, daß uns die W.sche Thrombinmethode in dieser Richtung überhaupt brauchbare Werte liefert. Daß sie es doch wohl tun muß, erhellt eigentlich aus den Resultaten der Emanationsversuche. Hier haben wir die einzige Versuchsserie, in der eine akute Veränderung der Gerinnungszeit nicht eine gleichsinnige Ab- oder Zunahme der F.-F.- und F.-G.-Einheiten hervorruft, sondern wo F.-F. konstant erhöht wird, während F.-G. unverändert bleibt. Das letztere ist nach unseren Kenntnissen über die Beeinflussung der Blutkonzentration durch Radiumemanation zu erwarten gewesen.

Es wäre verfrüht, heute schon auf Grund dieser Befunde Schlüsse für oder wider die verschiedenen Gerinnungstheorien zu ziehen. Immerhin müssen diese Resultate, abgesehen zunächst von den Emanationsversuchen, unsere Aufmerksamkeit besonders auf die Theorie von Nolf[1]) lenken, der in dem Gerinnungsvorgang

[1]) Nolf.

ja auch nur eine chemische Reaktion sieht und bei dem aber das Thrombin nur das Endprodukt der Gerinnung, ein in Lösung gebliebenes Fibrin, aber nicht die Vorstufe zu der endgültigen Gerinnung darstellt.

II. „Chronische" Beeinflussung des Gerinnungsaktes.

Eine zweite Reihe von Untersuchungen nahmen wir am Menschen vor mit Vertretern jener Gruppe der Hämostyptica, die eine Veränderung der Muttersubstanz des Blutgerinnsels bewirken. Die Untersuchungen von Moll[1]) haben uns gezeigt, daß die parenterale Zufuhr aller Arten von Eiweißkörpern eine Vermehrung des Fibrinogens im Blute hervorruft. Wir wählten zu unseren Versuchen die Injektion von Pepton und artfremdem Serum. Da die Effekte der Seruminjektionen mit denen der Peptoninjektionen übereinstimmen, sollen an dieser Stelle nur die letzteren ausführlich mitgeteilt und besprochen werden.

Wir bestimmten die Fibrinogenmenge im venösen Blute einmal mit der biologischen Methode von Wohlgemuth, dann aber auch mit der von Reye[2]) angegebenen und von Porges und Spiro[3]) zweckmäßig modifizierten, chemisch quantitativen Methode. Das Prinzip der letzteren besteht darin, daß wir das Blutplasma mit $^1/_4$ Volumen der

Versuch 8.
Protokoll 21. XI. bis XII. 1911.

Datum der Blutentnahme	Temperatur °C	Cap. G. F.	F. G.	mg N in 1 ccm Blutserum, dem Fibrinogengehalt entsprechend
30. XI. 11 9h vorm.	36,5	3′ 30″	250	0,6613
1. XII. 11 9h 43′ vorm.	20 ccm 5%ige Peptonlösung subcutan (r. Oberschenkel)			
1. XII. 11 5h nachm.	40,2	2′ 30″	1000	5,9663
3. XII. 11 11h vorm.	36,2	3′ 40″	1000	8,8698
16. XII. 11 11h vorm.	36,6	3′ 30″	500	1,7537

[1]) Moll, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 578; Wiener klin. Wochenschr. 1903, Nr. 44.

[2]) Reye, Inaug.-Diss. Straßburg 1898.

[3]) Porges und Spiro, Beiträge z. chem. Pathol. u. Physiol. 3, 277.

bei 32° bereiteten, konzentrierten Natriumsulfatlösung versetzen. Diese Mischung läßt man 3 bis 6 Stunden lang unter Vermeidung der Verdampfung bei dieser nämlichen Temperatur stehen und filtriert dann von dem entstehenden Niederschlag ab. Im Filtrat, wie auch im ursprünglichen Plasma wird die Stickstoffmenge nach Kjeldahl bestimmt. Die N-Menge des Filtrates, abgezogen von der des Plasmas, soll dann die dem Fibrinogen entsprechende Stickstoffzahl ergeben.

Aus dem vorstehenden, gekürzt wiedergegebenen Versuch 8 ist ersichtlich, daß 8 Stunden nach einer Injektion einer 5%igen Peptonlösung, die, in dem vorliegenden Falle unter Schüttelfrost einhergehende, Temperatursteigerung ihren Höhepunkt erreicht hat. Dabei ist die capillare G.-F. erhöht, und das in diesem Zustande entnommene Blut zeigt schon eine sehr deutliche Erhöhung seines Fibrinogengehaltes. Nach 42 Stunden ist der Wert noch weiter gestiegen zu einer Zeit, da die Körper-Temperatur ebenso wie die capillare G.-F. schon wieder normale Werte erreicht hat. Diese Erhöhung des Fibrinogengehaltes kommt bei der chemischen Methode besser und eklatanter zum Ausdruck. Sie zeigt sich im vorliegenden Falle bis über das Zehnfache gesteigert. Auch die biologische Methode erweist sich als brauchbar zum Nachweis einer Veränderung dieser Verhältnisse beim gleichen Menschen; doch zeigt es sich hier ganz deutlich, daß wir exakte Angaben über die Stärke der Zunahme aus ihr nicht entnehmen können. Wir würden ein ganz falsches Bild bekommen, wenn wir den für F.-G.-Einheiten erreichten Wert von 1000 so deuten wollten, daß hier nur eine 4 fache Verstärkung im Blute gegenüber dem Anfangswert eingetreten sei. Man erkennt aus diesen Zahlen schließlich nur die Größe jener Verdünnung, bei der noch das fibrinogenhaltige Plasma mit Thrombin das Gerinnungsphänomen erzeugen kann. Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß dadurch stärkere Störungen des Reaktionsverlaufes eintreten.

Auch in diesen Versuchen wurde die „Thrombin"-Menge bestimmt, wir nehmen aber von einer Wiedergabe dieser Resultate Abstand, da wir erstens hierbei auffallend häufig sog. gestörte Reihen sahen, ferner aber bei den stark veränderten Fibrinogen- und Fibrinverhältnissen die vorn schon gerügten Fehlerquellen in erhöhtem Maße erwarten mußten. In der Tat zeigen die Werte ein nicht konstantes, stark wechselndes Verhalten.

Im Prinzip das gleiche Bild wie Versuch 8 zeigt uns der ebenfalls nur in seinen Hauptdaten wiedergegebene Versuch 9. Wir wählen seine Wiedergabe deswegen, weil hier ein Fall vorlag, bei dem infolge einer durchgemachten, noch im Abklingen befindlichen Pneumokokkeninfektion der Fibrinogenwert, wie wir das aus Untersuchungen von Langstein und Meyer[1]) bereits kennen, erhöht war. Trotzdem zeigt uns die capillare Gerinnungszeit normale Werte und auch der biologisch bestimmte F.-G.-Wert ist nicht besonders hoch. Die subcutane Injektion von 20 ccm einer 5%igen Peptonlösung, die in ähnlicher Weise wie im ersten Falle die Temperatur deutlich in den nächsten 7 bis 10 Stunden erhöhte, zeigte eine starke Wirkung auf die capillare G.-Z. Die Stickstoffbestimmung konnte aus äußeren Gründen nicht ganz durchgeführt werden.

Versuch 9.

Protokoll 22. XI. bis XII. 1911.

Datum der Blutentnahme	Temperatur °C	Cap. G.-F.	F.-G.	mg N in 1 ccm Blutserum, dem Fibrinogengehalt entsprechend
30. XI. 11 $9^1/_4{}^h$ vorm.	37,5 (Bronchitis)	4′	500	8,6760
1. XII. 11 $9^3/_4{}^h$ vorm.	20 ccm 5%ige Peptonlösung subcutan (l. Oberschenkel)			
1. XII. 11 5^h nachm.	39,0	2′ 30″	Aus äußeren Gründen nicht ausgeführt	
3. XII. 11 11^h vorm.	36,4	4′ 10″	1000	10,2840
16. XII. 11 11^h vorm.	36,4	4′ 5″	500	0,72378

Bereits am 2. XII. war Temperatur und capillare Gerinnungszeit wieder zur Norm zurückgekehrt. Wir finden aber noch am 3. XII., also nach 48 Stunden, einen deutlich erhöhten Stickstoffwert für die dem Fibrinogen entsprechende Globulinfraktion des Blutserums; auch der biologische Nachweis zeigt eine Erhöhung des Wertes. Daß der letztere hier doppelt so hoch erscheint, während die quantitativen chemischen Werte nur die Erhöhung um ein Viertel zeigen, beweist, wie oben schon angedeutet, daß uns die W.sche Methode nur approxi-

[1]) Langstein und Meyer, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 69.

mative Orientierungswerte geben kann. Nach 14 Tagen findet sich der Stickstoffwert wieder auf Normalhöhe.

Fassen wir die Resultate, wie wir sie in diesen beiden Versuchen beispielsweise kurz demonstriert haben, zusammen, so ist es uns gelungen, durch parenterale Zufuhr von Pepton in der von Moll beschriebenen Weise eine starke Vermehrung des Fibrinogengehaltes, resp. der entsprechenden Globulinfraktion im Blutserum zu erzielen. Es handelte sich für uns darum, zu sehen, wie sich bei dieser Art von Änderung eines Faktors des Gerinnungsvorganges die Gerinnungsschnelligkeit im capillaren Blute verhält. Es findet sich nun hier die Tatsache, daß der Fibrinogengehalt auf dieses zeitliche Moment im Capillarblut keinen Einfluß ausüben kann. Daß beim ersten, mit Fieber einhergehenden, mehrstündigem Stadium eine Verkürzung der Gerinnungszeit einsetzt, hat bereits Grau[1]) in seinen Gelatine- und Tuberkulinversuchen gezeigt. Nach unserer Ansicht wird aber gleichsinnig mit dem akuten Impuls zur Fibrinogenvermehrung ebenfalls der aktivierende Faktor des Gerinnungsvorganges ausgeschwemmt oder verstärkt, resp. Störungen im Gleichgewicht der Gerinnungskomponenten hervorgerufen, wovon an anderer Stelle des Näheren die Rede sein soll. Warum die F.-F.-Einheiten in dieser Versuchsserie nicht brauchbar waren, ist vorn schon erörtert.

Eines besonderen Hinweises bedarf noch die Tatsache, daß man durch Peptoninjektion die gleichen Effekte erzielen kann, wie durch Seruminjektion. Eine Ungerinnbarkeit des Blutes ist niemals bei dieser Art des Vorgehens beobachtet worden, worauf neuerdings auch schon von amerikanischer Seite hingewiesen wurde[2]).

Ebenso wie wir es vermeiden, strikte Schlüsse aus diesen Untersuchungen für die Theorie der Gerinnung zu ziehen, ebenso wollen wir uns auch über die naheliegenden praktischen Folgerungen für die Hämostypsis hier zunächst nicht weiter auslassen.

---

[1]) Grau, Deutsches Arch. f. klin. Med. **101**, 150, 1910.

[2]) Siehe auch von den Velden, Zeitschr. f. Immunforschung u. experim. Therapie 8, 346.

Erwiderung an K. Glaeßner (Wien).

Von

J. Wohlgemuth.

(Eingegangen am 18. Juni 1912.)

Die von Glaeßner an meiner Arbeit über menschlichen Pankreassaft (diese Zeitschrift **39**, Heft 3/4) geübte Kritik **41**, 325 enthält so viele unrichtige Angaben, daß ich mich zu einer Erwiderung gezwungen sehe.

Die erste Unrichtigkeit findet sich auf S. 326. G. sagt dort: „Der zweite Punkt, den ich hier besprechen möchte, bezieht sich auf den Nachweis von Erepsin im Pankreassaft, den W. als sein Verdienst in Anspruch nimmt, obwohl ich in Gemeinschaft mit A. Stauber Erepsin im Pankreasextrakt und Pankreassaft schon vor mehreren Jahren nachweisen konnte." Wie es mit dieser Behauptung steht, beweist folgender Passus aus den einleitenden Worten zu dem Abschnitt Erepsin in meiner Arbeit (**39**, S. 309): „Wenn wir von den Arbeiten älteren Datums absehen, so ist in erster Reihe durch die neuerdings bekannt gewordenen Untersuchungen von Glaeßner und Stauber der Beweis erbracht worden, daß der Pankreassaft ereptische Eigenschaften besitzt."

Die zweite Unrichtigkeit bezieht sich auf den von mir erhobenen Befund, daß inaktiver menschlicher Pankreassaft schon vor der Aktivierung Erepsin besitzt. G. behauptet, diese Tatsache ebenfalls bereits festgestellt zu haben und zitiert als Beleg hierfür aus seiner Arbeit den Satz (S. 326): „Unsere eigenen Versuche bezogen sich auf käufliches Trypsin, ferner auf Pankreasdrüsenextrakte, endlich auf Pankreassaft. Es zeigte sich, daß alle drei Pankreaspräparate neben der stark tryptischen Wirkung auch eine deutliche ereptische Wirkung zeigten." Aus diesem Zitat geht mit keinem einzigen Wort hervor, daß G. auch inaktiven Pankreassaft untersucht hat. Vielmehr sagt er ausdrücklich, daß alle drei Pankreaspräparate (also auch der Pankreassaft) stark tryptische Wirkung zeigten. Auch sonst findet sich in G.s Arbeit kein Satz, aus dem auch nur andeutungsweise hervorgehen könnte, daß er ebenso wie ich mit inaktivem Pankreassaft gearbeitet hat.

Die dritte Unrichtigkeit betrifft meine Beobachtung, daß das Erepsin durch die Gegenwart von Serum in seiner Wirkung gefördert wird. Auch diesen Befund will G. schon vor mir erhoben haben und führt zum Beweis folgenden Satz aus seiner Arbeit an (S. 327): „Die Erepsinwirkung wird dagegen durch Zusatz von Serum nicht tangiert." Daß Nichttangieren und Fördern zwei grundverschiedene Dinge sind, wird mir wohl jeder ohne weiteres zugeben.

Die vierte Unrichtigkeit bezieht sich auf die Interpretation meiner Methode des Labnachweises im Pankreassaft. Diese Unrichtigkeit findet aber im Gegensatz zu den andern ihre Erklärung darin, daß G. das Prinzip meiner Methode offenbar gar nicht verstanden hat. — Sie ist, noch einmal kurz skizziert, folgende:

Von der Erfahrung ausgehend, daß die Labwirkung in einem tryptisch gut wirksamen Pankreassaft deshalb so schwierig festzustellen ist, weil in der Wärme unter dem Einfluß des Trypsins das durch Lab aus dem Casein gebildete Paracasein sofort weiter abgebaut wird, bin ich so vorgegangen, daß ich die Umwandlung des Caseins in Paracasein sich in der Kälte vollziehen lasse und erst dann das Pankreassaft-Milch-Gemisch, bevor ich es zwecks Koagulation des Paracaseins in die Wärme bringe, mit $CaCl_2$-haltigem Serum versetze, um das Trypsin nicht in Aktion treten zu lassen. Auf diese Weise gelang es mir, in jedem daraufhin untersuchten menschlichen Pankreassaft Lab nachzuweisen. Hierzu äußert nun G. wörtlich (S. 326): „W. meint, daß sein konstant gelungener Nachweis von Lab und Pankreassaft die Behauptung von Pawlow und Parastschuk stütze, daß nämlich Lab und Trypsin identisch sind, eine Theorie, die durch meinen Befund der Abwesenheit von Lab im Pankreassaft haltlos wäre; der Nachweis W.s aber, daß man das Lab am besten dadurch nachweisen könne, indem man das Trypsin durch Serum zerstöre, steht in kontradiktorischem Gegensatz zur Pawlowschen Theorie und bestätigt indirekt wider Willen des Verfassers die Ansicht, daß Lab und Trypsin zwei verschiedene, sicher nicht identische Fermente seien."

Wie G. meine Methode als einen Beweis für seine Ansicht ansehen kann, daß Lab und Trypsin zwei verschiedene Fermente sind, ist mir unverständlich. Verstehen kann ich es nur dann, wenn ich eben annehme, daß G. das Wesen meiner Methode nicht erfaßt hat. Ich habe mich doch aber in meiner Arbeit gewiß klar genug ausgedrückt, wenn ich gesagt habe (S. 308): Ich lasse die Umwandlung des Caseins in Paracasein in der Kälte vor sich gehen und setze erst dann, wenn die Gläschen in die Wärme kommen, Serum zu, um die sofort mit großer Intensität einsetzende Trypsinwirkung zu kupieren usw. „Eine Hemmung der Labwirkung durch das nachträglich zugesetzte Serum ist nicht zu befürchten. **Denn die Umwandlung des Caseins in Paracasein hat sich ja bereits in der Kälte vollzogen, und auf den Koagulationsprozeß ist,** wie aus den grundlegenden Untersuchungen von Fuld hervorgeht, **der nachträgliche Zusatz von Serum ohne jede Bedeutung.**"

Endlich will G. überhaupt Bedenken gegen diese meine Methode haben und motiviert sie ausschließlich damit, daß er erklärt (S. 326): „Ein so komplizierter Vorgang (scil. wie meine Methode) findet zweifellos im Organismus nicht statt." Wenn das allein die „Bedenken" sind, die G. gegen mein Verfahren anzuführen hat, so kann ich mich damit vollkommen zufrieden geben. Ich muß mich aber doch wundern, einer solchen Argumentation zu begegnen.

Erwiderung an Glaeßner und Pick (Wien).

Von

J. Wohlgemuth.

(Eingegangen am 18. Juni 1912.)

In Band 41, Heft 3 und 4, besprechen Glaeßner und Pick die Resultate von Untersuchungen, die D. Minami-Tokio (diese Zeitschrift **39**, S. 339) über die Beziehungen zwischen Pankreas und Nebennieren auf meine Veranlassung angestellt hat, und ziehen in den Kreis ihrer Betrachtungen auch meine eigenen diesbezüglichen Untersuchungen, die ich in den Charite-Annalen **39**, S. 399, im Jahre 1911 publiziert habe.

Was zunächst meine Untersuchungen anbetrifft, so war für mich dazu die eigentliche Veranlassung folgender von G. und P. in der Zeitschrift f. experim. Pathologie und Therapie **6**, S. 525, aufgestellter Satz, angeführt unter Nr. 4 ihrer „Zusammenfassung“:

„Die Nebennieren von Pankreasfisteltieren zeigen ein fast völliges Fehlen der chromaffinen Substanz und Veränderung der Markzellen; der Extrakt dieser Nebennieren hat seine blutdrucksteigernde Wirkung eingebüßt.“

Dieser Satz ist doch nur so aufzufassen, daß **alle** Hunde mit Pankreasfisteln in ihren Nebennieren ein fast völliges Fehlen der chromaffinen Substanz und einen vollkommenen Schwund an Adrenalin aufzuweisen haben. Wenn diese Behauptung richtig war, so war nicht zu verstehen, wie Hunde mit Pankreasfisteln wochen-, ja monate- oder gar jahrelang am Leben bleiben konnten, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen zu zeigen, die auf einen Ausfall der Nebennierenfunktion hindeuteten. Von dieser Überlegung ausgehend, untersuchte ich seinerzeit 4 auf der experimentell-biologischen Abteilung gerade vorhandene Pankreasfisteltiere und fand in keinem Fall obigen Satz von Glaeßner und Pick bestätigt. Ebenso kam Minami, der 2 Pankreasfistelhunde untersuchte, die über 50 Tage gelebt hatten, zu dem gleichen negativen Ergebnis wie ich.

Jetzt erklären G. und P., daß drei der von mir untersuchten Hunde, die an Peritonitis und Pankreasgewebsnekrose zugrunde gegangen waren, und die beiden von Minami beobachteten „selbstverständlich“ für eine Beweisführung überhaupt nicht in Betracht kommen, sondern nur ein

Tier, das aus unbekannten Gründen ad exitum gekommen war. Von einer solchen Einschränkung ist aber in dem obigen von Glaeßner und Pick aufgestellten Satz kein einziges Wort zu finden. Sie gibt natürlich der Sachlage ein gänzlich verändertes Aussehen.

Doch auch in dieser nunmehr wesentlich eingeschränkten Form kann ich ihrem Satz nicht bedingungslos zustimmen. Denn mein Hund Nr. II, der nach G. und P. hier allein in Frage kommt, zeigte ebenso wie die drei andern Fisteltiere in seinen Nebennieren stellenweise reichliches Vorhandensein an chromaffinem Gewebe und vor allem große Mengen an Adrenalin, während bei dem Hund von G. und P. das chromaffine Gewebe fast völlig fehlte und der Extrakt seiner Nebennieren seine blutdrucksteigernde Wirkung gänzlich eingebüßt hatte. Es wird somit jedenfalls noch weiterer Untersuchungen bedürfen, ehe die hier zur Diskussion stehende Frage definitiv entschieden werden kann.

Der zweite von G. und P. beanstandete Punkt bezieht sich auf die mydriatische Wirkung des Pankreassaftes. Hierüber äußern sich beide in ihrer bereits erwähnten „Zusammenfassung“ unter Nr. 3 folgendermaßen: „Im Pankreassaft von Mensch und Hund finden sich stark mydriatisch auf die Froschpupille wirkende Substanzen. Die Ausscheidung dieser Substanzen findet vorwiegend nach Fleischfütterung statt.“

Hund I.

Anzahl der Tage	Fleischfütterung		Brotfütterung		Milchfütterung	
	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung
1	67,4	—	21,8	+	11,6	+
2	39,5	+	13,5	++++	15,8	+
3	20,4	+++	16,7	+	23,1	++++
4	25,9	++++	26,4	+	22,1	+++

Hund II.

Anzahl der Tage	Fleischfütterung		Brotfütterung		Milchfütterung	
	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung	Menge des Saftes	Grad der Pupillen-erweiterung
1	10,6	—	12,8	++++	2,6	+
2	9,6	+	3,8	++++	1,4	+
3	4,0	++++	8,7	+	3,9	++++
4	2,6	+++	9,2	+	2,1	+++

Dem gegenüber stellte Minami bei einer Nachprüfung dieser Frage fest, daß Fleischfütterung in keiner Weise die Ausscheidung von mydriatischer Substanz im Pankreassaft mehr begünstigt als Brot- oder Milchnahrung. Denn sowohl nach Fleisch wie nach Brot oder Milch enthielt der Pankreassaft bisweilen große, mitunter geringe Mengen dieser Substanz, bisweilen war er nach sämtlichen drei Nahrungsarten vollkommen wirkungslos. Daß Minami, worauf G. und P. sich berufen, nach Fleischfütterung zweimal maximale Pupillenerweiterung nach 15 Minuten, bei Milchfütterung erst nach 45 Minuten und bei Brotfütterung nach 1 Stunde auftreten sah, fällt für die zu entscheidende Frage nicht ins Gewicht. Allein ausschlaggebend sind die absoluten Mengen, und wenn man daraufhin Minamis Resultate durchmustert, so findet man ganz eindeutig, daß nach Brot- und Milchfütterung der Hundepankreassaft ebenso große Quantitäten an mydriatisch wirkender Substanz enthält wie nach Fleischfütterung. Als Beleg greife ich zwei Tabellen aus seiner Arbeit heraus (diese Zeitschr. **39**, S. 384, Tabelle IIIa und IIIb).

Daß die Ausscheidung von mydriatischer Substanz durch Pankreassaft nach Fleischnahrung eine ganz besonders große ist, vermag ich weder aus den hier wiedergegebenen noch aus den anderen von Minami mitgeteilten Tabellen zu ersehen.

Über die Beziehungen der Komplementwirkung des frischen Serums bei der Aktivierung der Immunkörper und des Kobragiftes.

Ein Beitrag zur Konstitution des Komplements.

Von

C. H. Browning, M. D., und T. J. Mackie, M. B., Ch. B.

(Aus dem Pathologischen Laboratorium der Universität und des Western Infirmary, Glasgow.)

(Eingegangen am 17. Juni 1912.)

Die Frage, welcher Art die Substanzen im frischen Serum sind, die zusammen mit Kobragift als Hämolysine wirken, ist eine sehr komplizierte. Die folgenden Versuche wurden angestellt in der Absicht, die Verhältnisse zwischen dem mit einem spezifischen Immunkörper wirkenden Komplement und den Körpern, die mit Kobragift Hämolyse bewirken, weiter zu klären. Besondere Beachtung wurde der Rolle der sogenannten Mittel- und Endstücke des Komplements bei den Reaktionen entgegengebracht. Gewaschene Ochsenblutaufschwemmung wurde als Testobjekt gebraucht; hauptsächlich wurde Meerschweinchenserum untersucht. Zunächst wurde komplementhaltiges Serum mit verschiedenen Agenzien behandelt, die das Vermögen besitzen, die Komplementwirkung für den Immunkörper aufzuheben; das derart behandelte Serum wurde dann auf seine Wirksamkeit zusammen mit Kobragift im Vergleich mit derjenigen des unbehandelten Serums geprüft; gleichzeitig wurde die Komplettierung mit Immunkörper zur Kontrolle bestimmt. Zweitens wurde komplementhaltiges Serum mit Kohlensäure gespalten und die Wirkungen der beiden Fraktionen wurden mit Immunkörper und mit Kobragift verglichen. Ferner wurde die Restitution der Komplementwirkung des mit den verschiedenen Komplementabsorbentien behandelten Serums durch die Serumbestandteile untersucht.

Die Wirkung des mit Komplementabsorbentien behandelten Serums.

Rote Blutkörperchen - Stromata (durch Erhitzung der Blutaufschwemmung auf 55° gewonnen) zusammen mit dem homologen Immunkörper (10 Dosen) beraubten das Serum seiner Komplementwirkung für den Immunkörper, ließen aber die hämolytische Wirksamkeit mit Kobragift fast ungeändert. Zur Absorption des Komplements wurde Ochsen- und Schafblut angewandt mit dem homologen Kaninchenimmunkörper, und Kaninchenblut mit Ziegenkaninchenimmunkörper. Die Resultate waren auffallend konstant.

Rote, mit Immunkörper beladene Blutkörperchen (10 Dosen) übten dieselbe Wirkung aus wie die sensibilisierten Stromata. Angewandt wurden Ochsen-, Schaf- und Meerschweinchenblutkörperchen mit den betreffenden Immunkörpern von Kaninchen. Gleichzeitig wurde der Effekt einer mit Wasser lackfarben gemachten Blutlösung ohne Serum geprüft, um Trugschlüsse durch „Endokomplementwirkung“ zu vermeiden.

Bakterienemulsion (Staphylococcus aureus) zeigten eine wechselnde Wirkung. Die folgenden Resultate wurden in einer Reihe von Versuchen erhalten (Tabelle I).

Tabelle I.

Versuchs-nummer	Hämolytische Wirkung des bei 37° mit Staphylokokken behandelten Serums zusammen mit	
	Immunkörper	Kobragift
1	fast Null	fast Null
2	stark	schwach
3	fast Null	stark

Fast Null, stark bedeuten die Wirkungen einer Menge gleich 10 bis 20 Dosen des nativen Serums.

Behandlung mit Wasser (frisches Serum wurde mit Wasser verdünnt und bei 37° belassen nach der Methode von Sachs und Teruuchi) führte zu ähnlichen wechselnden Resultaten wie die Digerierung mit Staphylokokken.

Filtrierung durch eine Berkefeldkerze hebt die hämolytische Wirkung des Serums auf, sowohl bei Kobragift wie beim Immunkörper.

Die Wirkung der durch Kohlensäurebehandlung gewonnenen Serumfraktionen.

Das verdünnte Serum wurde durch Kohlensäure gespalten (nach Liefmann). Es resultiert die Präcipitierung eines Teiles der Serumglobuline. Der Abguß (Endstück, Albuminfraktion) wurde entfernt und das Präcipitat (Mittelstück, Globulinfraktion) wurde in Kochsalzwasser gelöst. Unter richtig gewählten Bedingungen übt ein großes Multiplum der in der hämolytischen Dosis des nativen Serums vorhandenen Menge jedes Bestandteils fast keine komplettierende Wirkung aus; aber ein Gemisch beider Komponenten in den ursprünglichen Verhältnissen ist fast ebenso wirksam wie das native Serum. Dieses Resultat wird jedoch nicht immer erreicht, und häufig besitzt eine der beiden Fraktionen an und für sich eine erhebliche Komplementwirkung. In einer Reihe von Versuchen wurde die hämolytische Wirkung jedes Serumbestandteils untersucht mit den folgenden Resultaten (Tabelle II).

Tabelle II.

Versuchs-nummer	Hämolytische Wirkung der			
	Globulinfraktion (Mittelstück) zusammen mit		Albuminfraktion (Endstück) zusammen mit	
	Immunkörper	Kobragift	Immunkörper	Kobragift
4	fast Null	fast Null	fast Null	fast Null
5	schwach	sehr schwach	sehr stark	sehr schwach
6	fast Null	sehr stark	stark	fast Null

Die Resultate sind also offenbar sehr wechselnd. Wenn die Trennung nicht gelingt, dann besteht kein konstantes Verhältnis zwischen den Wirkungen eines Bestandteils mit Immunkörper und mit Kobragift. Am häufigsten findet man die Globulinfraktion unwirksam sowohl mit Kobragift wie mit Immunkörper. Eine fast vollkommene Restitution der ursprünglichen hämolytischen Kraft des Serums mit Kobragift und mit Immunkörper findet gewöhnlich nach der Mischung der beiden Komponenten statt.

Die Restitution der Komplementwirkung durch die Zufügung der Serumfraktionen zu dem absorbierten Serum.

Das Serum wurde nach der von den verschiedenen Agenzien bewirkten Komplementabsorption gemischt mit 1. der Globulin-

fraktion (Mittelstück) und 2. der Albuminfraktion (Endstück); dann wurde der Grad der Komplementrestitution geprüft. Als Kontrollen wurden die Wirkung jedes Bestandteiles an und für sich und des Gemisches beider Fraktionen immer gleichzeitig untersucht.

Behandlung mit sensibilisierten Stromata. Die Aktivierung für Immunkörper erfolgte einmal durch Endstückzusatz, ein anderes Mal durch den Zusatz von Mittel- und Endstücken.

Behandlung mit sensibilisierten Blutkörperchen. In einigen Fällen wirkte weder die eine noch die andere Komponente aktivierend; in anderen Fällen bewirkte das Endstück allein die Restitution, oder das Endstück erwies sich wieder als mäßig und das Mittelstück als schwach wirksam.

Behandlung mit Staphylokokken. Auch hier sind wechselnde Resultate erzielt worden und es bestand kein Verhältnis zwischen der restituierenden Wirkung für Immunkörper und für Kobragift. Einmal bewirkte das Mittelstück die Aktivierung für Immunkörper, aber nicht für Kobragift, ein anderes Mal verhielt sich das Endstück ebenso.

Filtriertes Serum erwies sich durch die beiden Komponenten sowohl für Immunkörper wie für Kobragift als nicht mehr aktivierbar.

Die Struktur des Komplements.

Das Fehlen eines konstanten Verhältnisses der Wirkungen der Globulin- und Albuminfraktionen an und für sich bei der Prüfung mit Immunkörper und mit Kobragift in verschiedenen Versuchen, sowie die Unregelmäßigkeit der Restitution der Komplementwirkung eines mit Absorbentien behandelten Serums machen es wahrscheinlich, daß die Komplementwirkung eines Serums auf der Gesamtaktion vieler Faktoren beruht und daß Mittelstück und Endstück nicht als konstante Einheiten anzusehen sind. Die von Ritz festgestellte Tatsache, daß ein durch Kobragiftbehandlung seiner Komplettierungsfähigkeit beraubtes Serum, durch die Zufügung von auf 54° erhitztem Serum wieder seine hämolytische Wirkung zusammen mit Immunkörper entfaltet, wurde bestätigt. Es wurde weiter gefunden, daß Kaninchenendstück, das mit Meerschweinchenmittelstück keine Hämolyse bewirkte, sogar nach Erhitzung auf 54° das Kobra-

giftserum aktivierte. Ritz schreibt diesen Effekt des erhitzten Serums einer „dritten Komponente“ zu. Jedoch ist es fraglich, ob die Annahme einer additionellen dritten Komponente alle obenerwähnten Vorgänge zu erklären vermag.

Zusammenfassung.

1. Meerschweinchenserum, das seiner Komplementwirkung für Immunkörper durch die Behandlung mit sensibilisierten Blutkörperchen oder deren Stromata beraubt wurde, besitzt fast ungeändert seine Fähigkeit, zusammen mit Kobragift Hämolyse zu bewirken. Dieses sehr konstante Resultat deutet darauf hin, daß das mit Immunkörper zusammenwirkende Komplement und dasjenige, das mit Kobragift die Hämolyse hervorruft, sicherlich nicht identisch sind. Die Natur der diesbezüglichen Prozesse macht es klar, daß ein nach dieser Methode zutage tretender Unterschied viel beweiskräftiger für die Verschiedenheit der zugrunde liegenden Wirkungen ist, als ein auf ihre Identität aus dem Verhalten gegenüber physikalischen und chemischen Agenzien, die die Komplementwirkung ganz vernichten, gezogener Schluß.

2. Durch Kohlensäurespaltung kann man das Serum in zwei Fraktionen zerlegen, von denen jede in großen Dosen zusammen mit Kobragift keine hämolytische Wirkung entfaltet, aber beide zusammen quantitativ in demselben Grade wie das native Serum wirken. Es besteht in dieser Hinsicht ein Parallelismus zwischen der Immunkörperkomplettierung und der Kobragiftserumhämolyse.

3. Falls die definitive Zerlegung des komplementhaltigen Serums in zwei inaktive Bestandteile nicht gelingt, dann wird zwischen der hämolytischen Fähigkeit der Bestandteile zusammen mit Immunkörper und mit Kobragift kein konstantes Verhältnis beobachtet.

4. Die restituierende Wirkung der Serumfraktionen auf das mit komplementabsorbierenden Agenzien behandelte Serum ist eine unregelmäßige.

5. Diese Resultate, zusammen mit den Beobachtungen von Cruickshank und Mackie deuten darauf hin, daß mehr Faktoren bei der Komplementwirkung des Serums beteiligt sind als bisher angenommen wurde.

Studien in der Chlorophyllgruppe. XVII.

Die spektralen Eigenschaften der beiden Chlorophyllane.

Von

L. Marchlewski.

(Eingegangen am 23. Juni 1912.)

Bekanntlich ist es gelungen nachzuweisen, daß Chlorophyllan (Phäophytin, Phyllogen) ein Gemisch von wechselnden Mengen mindestens zweier Chlorophyllabkömmlinge ist, des Neo- und Allochlorophyllans. Letzteres wurde auf chemischem Wege zum erstenmal von mir und Malarski[1]) aus dem Chlorophyllan gewonnen. Die Methode basierte auf der ungleichen Geschwindigkeit, mit der die beiden Chlorophyllane mit Zn $(HO)_2$ in alkoholischer Lösung bei Anwesenheit eines Kohlensäurestromes reagieren. Die spektralen Eigenschaften beider Substanzen wurden bereits von uns angegeben, und zwar für ätherische Lösungen unbekannter Konzentration, sowie auch für chloroformische, die im Liter 0,2 g enthielten.

Unsere Resultate stimmten mit den Angaben von Tswett[2]) in einem wesentlichen Punkt nicht überein; während derselbe ein Band bei λ 628 bis 622 $\mu\mu$ erwähnt und die Anwesenheit desselben in vehementer Art mir gegenüber aufrecht hielt, konnte ich bei den zahlreichen nunmehr im hiesigen Laboratorium dargestellten Präparaten kein solches Band auffinden. Ich war demnach notwendig zu dem Schluß geführt worden, daß weder das von Tswett untersuchte Produkt rein, noch seine Methode zur Reindarstellung desselben ganz einwandfrei war, obwohl ich gerne zugab, daß letztere zur Orientierung in manchen Fragen der Chlorophyllchemie nützlich sein kann, da sie die Anwendung chemischer Agenzien ganz ausschließt.

---

1) Diese Zeitschr. **21**, 529, 1909.

2) Diese Zeitschr. **35**, 433, 1911.

In letzter Zeit kommt nun auch Willstätter[1]), der anfangs für die Einheitlichkeit des Chlorophyllans stimmte, zu der Ansicht, daß es aus zwei Komponenten besteht. In einer Arbeit, in der meine früheren diesbezüglichen Publikationen gar nicht erwähnt werden, bespricht er das Spektrum des Allochlorophyllans, dem er die Bezeichnung „Phäophytinkomponente b" gibt. Er hebt dabei ausdrücklich hervor, daß nach seinen Beobachtungen, entgegen denjenigen von Tswett, diese Komponente im Orange kein Band λ 628 bis 622 aufweist. Meine Beobachtungen und Behauptungen wurden also durch einen dritten Experimentator vollkommen bestätigt und ich darf unter diesen Umständen die Frage als erledigt erachten, trotzdem noch neuerdings Tswett[2]) auf den von mir selbst hergestellten Photographien das fragliche Band beobachtet haben will.

Um meine früheren Angaben abzurunden, habe ich die früheren Messungen noch insoweit ergänzt, als ich die Lage der Allochlorophyllanbänder für eine ätherische Lösung bekannter Konzentration ermittelte. Untersucht wurde das Spektrum vom äußersten Rot an bis λ 333 $\mu\mu$, also bedeutend vollständiger als dies bisher für ätherische Lösung gemacht worden war, und analog wie ich früher mit Prof. C. A. Jacobson[3]) verfuhr.

Die Messung der Bänder im schwächer gebrochenen Spektrumteil geschah in der gewöhnlichen Art in bezug auf die Helium-Linien. Von etwa 455 $\mu\mu$ an geschah die Untersuchung auf photographischem Wege mit Hilfe des großen Quarzspektrographen von Hilger. Wainwright-Wrattensche Platten wurden benutzt wie zuvor.

Die von mir ermittelten Begrenzungen der meisten Bänder stimmen, wie die unten gegebene Zusammenstellung aufweist, im allgemeinen besser mit den Tswettschen Angaben als mit den Willstätterschen (abgesehen natürlich von dem angeblichen Band λ 628 bis 622). Entgegen den Beobachtungen dieser beiden Autoren, aber übereinstimmend mit allen früheren im hiesigen Laboratorium gemachten, fand ich auch diesmal kein

---

[1]) Liebigs Annalen 385, 172, 1911.

[2]) Chromophylle usw. (russisch). Warschau 1911.

[3]) Diese Zeitschr. 39, 180, 1912.

individuelles Band λ 452 bis 446 μμ, sondern nur einen Schatten an der weniger gebrochenen Seite des stärksten Bandes der ganzen Serie, das bekanntlich in der Methode von Jacobson und mir zur Bestimmung des Allochlorophyllans in Chlorophyllangemischen die Hauptrolle spielt.

Spektrum des Allochlorophyllans. 0,2 g pro 1 l Äther.

<table>
<tr><th>Schichtendicke</th><th>2 mm</th><th>6 mm</th><th>10 mm</th><th>14 mm</th><th>18 mm</th><th>26 mm</th></tr>
<tr><td>Band I</td><td>660,0—649,5</td><td>665,0—645,0</td><td>668,0—642,0</td><td>670,5—638,0</td><td>675,5—635,0</td><td>679,0—633,5</td></tr>
<tr><td>„ II</td><td>—</td><td>607,5—592,5</td><td>606,0—592,0</td><td>608,0—590,5</td><td>609,5—589,5</td><td>614,0—589,0</td></tr>
<tr><td>„ III</td><td>—</td><td>561,5—551,5</td><td>563,0—550,0</td><td>563,0—550,0</td><td>564,0—547,0</td><td rowspan="7">565,5</td></tr>
<tr><td>„ IV</td><td>—</td><td>537,0—528,5</td><td>538,0—528,0</td><td rowspan="2">540,0—508,0</td><td rowspan="2">540,5—505,0</td></tr>
<tr><td>„ V</td><td>—</td><td>523,5—514,0</td><td>524,0—512,0</td></tr>
<tr><td>„ VI</td><td>—</td><td>495,5—478,5</td><td>496,5—477,5</td><td>508,0—465,0</td><td>505,0—466,5</td></tr>
<tr><td>„ VII</td><td rowspan="3">Endabsorption 449,0</td><td rowspan="3">von 451 an</td><td rowspan="3">von 461,5 an</td><td rowspan="3">von 465,5 an</td><td rowspan="3">von 466,5 an</td></tr>
<tr><td>„ VIII</td></tr>
<tr><td>„ IX</td></tr>
</table>

Erwähnt sei, daß in den 14 und 18 mm-Schichten das 5. Band überhaupt nicht zu bemerken ist; das Feld zwischen den zusammengeflossenen Bändern IV und V und der Endabsorption ist stark verdunkelt.

In bezug auf die Intensitätsreihenfolge lassen sich die obigen Bänder wie folgt ordnen:

Endabsorption $> \mathrm{I} > \mathrm{IV} = \mathrm{V} > \mathrm{II} > \mathrm{III} > \mathrm{VI}$.

Bemerkenswert ist der Umstand, daß auch in den höchsten Schichtendicken das äußerste Rot und Orange, zwischen den Bändern I, II, III wenig geschwächt erscheint.

Die Endabsorption löst sich bei der Untersuchung verdünnterer Lösungen in drei Bänder auf, von denen das stärkste am schwächer gebrochenen Rand, wie schon erwähnt, von einem Schatten begleitet ist.

Die obige Lösung wurde so weit verdünnt, daß 1 ccm 0,00002 g Allochlorophyllan enthielt. Die Lage der Bänder wurde in bezug auf 20 Kupferlinien ermittelt:

Schichtendicke	Band IX	Band VIII	Band VII
2 mm	—	—	430,5—436,0
4 „	—	412,0—414,0	429,0—436,5
6 „	—	411,0—414,5	427,0—438,5
8 „	—	409,5—415,5	424,0—441,0—450
10 „	366,0—374,0	408,0—416,5	422,5—444,0—452
12 „	364,0—376,0	406,5—418,0	419,0————453

Bemerkt sei, daß die Messung des VIII. sehr matten und verwaschenen Bandes sehr unsicher ist.

Endlich gebe ich eine Zusammenstellung meiner Resultate mit denen von Willstätter und von Tswett. Ich wähle hierbei diejenige Konzentration bzw. Schichtendicke, bei der das IV. und V. Band noch nicht zusammenschmelzen, bei der aber das VI. Band gut erkennbar ist.

<table>
<tr><th>Band</th><th>Marchlewski</th><th>Willstätter</th><th>Tswett</th><th></th></tr>
<tr><td>I</td><td>668,0—642,0</td><td>679,0—641,0</td><td>665,0—642,0</td><td>670,0—640,0</td></tr>
<tr><td>II</td><td>606,0—592,0</td><td>608,0—593,0</td><td>608,0—592,0</td><td>610,0—590,0</td></tr>
<tr><td>III</td><td>563,0—550,0</td><td>565,0—551,0</td><td>563,0—552,0</td><td>565,0—551,0</td></tr>
<tr><td>IV</td><td>538,0—528,0</td><td>539,0—530,0</td><td>539,0—630,0</td><td rowspan="2">540,0—513,0</td></tr>
<tr><td>V</td><td>524,0—512,0</td><td>524,0—515,0</td><td>522,0—515,0</td></tr>
<tr><td>VI</td><td>496,5—477,5</td><td>515,0—491,0</td><td>Spuren</td><td>490,0—480,0</td></tr>
</table>

Die Übereinstimmung ist demnach gut, mit Ausnahme des VI. Bandes in den Willstätterschen Angaben und eines Bandes bei 628—622 $\mu\mu$ von Tswett, das in der obigen Zusammenstellung weggelassen wurde.

Ein Vergleich meiner jetzigen Messungen mit früher publizierten zeigt gute Übereinstimmungen[1]). Die Bänder der chloroformischen Lösungen sind etwas mehr nach Rot hin verschoben, dies bezieht sich besonders auch auf die drei auf photographischem Wege ermittelten Bänder[2]).

Ich gehe nun zum Neochlorophyllan über. Dasselbe wurde zuerst von Tswett[3]) isoliert. Sodann erhielt ich es nach zwei verschiedenen Methoden mit C. A. Jacobson[4]). Inzwischen wurde das Spektrum desselben von Willstätter, Stoll und Utzinger[5]) beschrieben. Gegen die Beschreibung von Tswett habe ich bereits einwenden müssen, daß, falls (wie dieser Autor dies behauptet) das Neochlorophyllan-Spektrum mit dem des Phyllocyanins übereinstimmt, es unmöglich ein Band bei 637 bis 632 enthalten kann. Die Untersuchungen von Jacobson und mir, die sich allerdings nur auf chloroformische Lösungen beziehen, haben die Abwesenheit eines

[1]) Vgl. diese Zeitschr. **21**, 531, 1909; **35**, 433, 1911.

[2]) Jacobson und Marchlewski, diese Zeitschr. **39**, 180, 1912.

[3]) l. c.

[4]) Diese Zeitschr. **40**, 298, 1912.

[5]) Liebigs Annalen **385**, 171, 1911.

Spektrum des Neochlorophyllans. 0,4 g pro 1 l Äther.

Schichtendicke	1,5 mm	3 mm	5 mm	7 mm	9 mm	11 mm	13 mm	20 mm
Band I	677,0—657,5	679,5—652,5	681,0—648,5	683,5—647,5	685,0—645,0	686,5—643,0	686,5—641,5	694,5—592,0
					Schatt. bis 636,0	Schatt. bis 636,0	Schatt. bis 635,0	
" II	612,5—600,0	614,5—600,0	615,0—598,5	616,0—598,0	619,0—599,5	620,5—598,5	621,5—596,0	
" III	—	—	564,0—554,0	563,5—554,0	566,0—552,0	566,0—551,0	566,0—548,5	569,5—549,0
" IV	535,0—529,0	536,0—528,0	537,2—527,5	538,5—526,5	539,0—525,5	539,5—523,5	539,5—523,0	
" V	510,0—491,0	510,8—491,0	512,5—489,5	513,5—489,3	515,5—487,0	516,5—486,5	517,0—486,0	
" VI	—	—	479,0—463,0	479,5—462,5	479,5—462,0	482,0—460,5	s. undeutlich	
" VII, " VIII, " IX	Endabsorption 436,0	445,0	447,0	450,0	451,0	452,0	453,0	542,0

solchen Bandes erwiesen. Andererseits erhielt die Angabe von Tswett eine Stütze in den Beobachtungen der erwähnten Züricher Autoren, die ebenfalls ein Band bei λ 637 bis 632 $\mu\mu$ bemerkten. Es war daher geboten, das Neochlorophyllan nochmals einer Untersuchung zu unterziehen, um so mehr, als sich die Angaben von Jacobson und mir nur auf chloroformische Lösungen beziehen. Dem diskutierten Band habe ich natürlich besondere Aufmerksamkeit geschenkt und gelange zur Überzeugung, daß dieses Band dem reinen Neochlorophyllan nicht eigen ist, übereinstimmend mit dem Befunde von Jacobson und mir. Zur Untersuchung gelangten Neochlorophyllanpräparate, die nach beiden Methoden von Jacobson und mir aus Brennesselblättern und Acer - platanoides - Blättern erhalten wurden. Die Reinigung derselben geschah nach der Methode von E. Schunck durch häufiges Abscheiden des Produktes aus konz. Chloroformlösungen durch Alkoholzusatz.

Die Reinheit des erhaltenen Präparates, besonders die Abwesenheit von Allochlorophyllan wurde nach der Methode von Jacobson und mir geprüft, d. h. es wurde untersucht, ob die Photographien des stärker gebrochenen Teiles des Spek-

trums keine Andeutung eines Bandes bei 430,5 bis 436,0 $\mu\mu$ aufweist. Es wurde hierbei oft bemerkt, daß, obwohl ein untersuchtes Präparat im weniger stark gebrochenen Teile ein Spektrum zeigte, das scheinbar die Anwesenheit von Verunreinigungen ausschloß, es dennoch als verunreinigt zu betrachten war, da die Absorptionsbänder des stärker gebrochenen Spektrumteils nicht normal erschienen. Die Überlegenheit der Untersuchung des stärker gebrochenen Spektrumteiles über die des weniger gebrochenen war unverkennbar (vgl. Tabelle).

Die Endabsorption löst sich bei der photographischen Untersuchung verdünnter Lösungen (0,04 g pro 1 Liter) in 3 Bänder auf. Die Lage derselben entspricht folgenden Wellenlängen:

Schichtendicke	Band IX	Band VIII	Band VII
2 mm	—	—	407,0—414,0
4 „	365,0—376,5	387,0—399,5	405,0—420,0
6 „	363,0—378,0	383,0————	————423,0
8 „	355,5————	————————	————426,0
10 „	346,5————	————————	————427,5
12 „	330,0————	————————	————429,0

In bezug auf die Intensität ordnen sich die Bänder wie folgt: Endabsorption $>$ I $>$ V $>$ IV $>$ II $>$ VI $>$ III. Von den drei im stärker gebrochenen Teile befindlichen Bändern ist VII das stärkste und IX das schwächste.

Ein Vergleich der obigen Werte mit den von Willstätter und von Tswett ermittelten zeigt im allgemeinen gute Übereinstimmung mit Ausnahme, wie bereits erwähnt, eines Bandes bei 637 bis 632 $\mu\mu$, welches das reine Neochlorophyllan nicht zeigt.

Wie Chlorophyllan selbst, so geben auch seine Bestandteile interessante Zinkverbindungen, die dem Neo- und Allochlorophyll entsprechen. Dieselben sollen Gegenstand einer besonderen Mitteilung bilden.

Über das Verhalten des Atophans im Organismus.

Von

Max Dohrn.

(Eingegangen am 23. Juni 1912.)

In der Zeitschr. f. klin. Med.[1]) sowie in der Münch. med. Wochenschr.[2]) ist von mir über das Verhalten des Atophans im menschlichen Organismus berichtet worden. Ich bin damals nur auf die Besprechung einer von mir im Harn aufgefundenen Substanz näher eingegangen. Nachdem sich jedoch in der Wiener klin. Wochenschrift Nr. 16, 1912 W. Skorczewski und J. Sohn, die schon in einer früheren Notiz auf Farbreaktion im Atophanharn hingewiesen hatten, mit der gleichen Frage beschäftigen und auf meine Angaben Bezug nehmen, möchte ich diese nunmehr vervollständigen.

Größere Mengen Atophanharn wurden konzentriert, mit Salzsäure schwach angesäuert und viele Stunden lang mit Äther extrahiert. Aus dem Ätherrückstand ließen sich mehrere Substanzen isolieren, die durch ihre Analysen wesentlich voneinander differieren. Ich habe bereits in der Notiz der Münch. med. Wochenschr. auf ein von mir isoliertes Derivat des Atophans hingewiesen, welches eine Hydroxylgruppe enthält. Es ist, wie W. Skorczewski und J. Sohn richtig mitteilten, ein oxydiertes Atophan, also eine Oxy-2-phenylchinolin-4-carbonsäure. Von derartigen Oxysäuren sind bisher die folgenden beiden bekannt gewesen:

I: COOH, $-C_6H_5$, N, OH — Schmelzpunkt 247°

und

II: COOH, OH—, $-C_6H_5$, N — Schmelzpunkt über 320°

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. Bl. 74, Heft 5 und 6.

[2]) Münch. med. Wochenschr. **1912**, Nr. 10.

Die beiden anderen noch möglichen Substitutionsprodukte am Benzolkern stellte ich aus m-Aminophenol, Benzaldehyd und Brenztraubensäure dar;

III (COOH; OH—; —C_6H_5; N) und (OH COOH; —C_6H_5; N) IV

sie ließen sich durch ihre verschiedene Löslichkeit in Alkohol leicht voneinander bereits während der Darstellung trennen. Sie entsprechen den Formeln III und IV, wobei ich dahingestellt sein lassen muß, ob das Produkt mit der OH-Gruppe in Stellung 7 den Schmelzpunkt 310° hat und dasjenige in Stellung 5 den Schmelzpunkt 225° oder umgekehrt. An Oxysäuren ist noch bekannt die 2-0-oxyphenylchinolin-4-carbonsäure von der Formel

V (COOH; —C_6H_4.OH; N)

Schmelzpunkt 238°

Die von mir isolierte und durch 6maliges Umkrystallisieren erhaltene Verbindung schmilzt bei 245° (korr.). Die Analyse ergab:

	C	H	N
gefunden:	72,48 %	4,13 %	5,36 %
berechnet:	72,44 %	4,15 %	5,29 %

Ich möchte mich dahin entscheiden, daß dieses Produkt die 8-Oxy-2-phenylchinolin-4-carbonsäure (I) ist.

Neben diesem Oxyatophan fand sich noch ein hydroxylhaltiges Produkt in reichlicher Menge. Ich habe es schon in der Zeitschr. f. klin. Med. als eine Oxypyridinursäure bezeichnet, von der Formel und Analyse:

CO.NH.CH_2.COOH (OH?; N)

	C	H	N
gefunden:	49,33 %	4,07 %	14,10 %
	49,31 %	3,88 %	—
berechnet:	48,98 %	4,08 %	14,28 %

Die Substanz wurde aus ihrer Sodalösung mit Säure ausgefällt und mit Eisessig mehrfach umkrystallisiert. Ureidsäuren der Oxypyridine sind nicht bekannt, und ich kann daher über die Stellung der OH-Gruppe nichts angeben. Die positive Diazoreaktion zeigt ihr Vorhandensein unzweifelhaft an. Donath spricht in seinen Versuchen über die desinfizierende Wirkung des Chinolins bereits im Jahre 1880 von der Wahrscheinlichkeit des Abbaues von Chinolin in Pyridincarbonsäure im Organismus. Und es ist bekannt, daß bei der Oxydation von Chinolincarbonsäure mit Kaliumpermanganat zuerst der Benzolkern angegriffen wird. Der niedrige Kohlenstoffgehalt der Substanz zeigt auch zur Genüge, daß ein starker Eingriff in das Chinolinderivat stattgefunden haben muß. Es ist nicht verständlich, wie W. Skorczewski und J. Sohn dieses von mir beschriebene Produkt als Zersetzungsprodukt des Oxyatophans in vitro ansehen können. Die Autoren sprechen von einer beobachteten leichten Zersetzlichkeit des von ihnen beschriebenen Oxyatophans. Ich möchte mich dieser Ansicht nicht anschließen, selbst wenn man das von ihnen isolierte Oxyatophan mit der Formel V identifizieren will. Denn von dieser Substanz gibt Döbner an, er könne sie über ihren Schmelzpunkt (238°) erhitzen und er erhält auf diese Weise nach Kohlensäureabspaltung die entsprechende Base 2-Oxyphenylchinolin, die Döbner zur Reindarstellung bei einer Temperatur von über 360° destillieren kann. Verträgt eine Substanz derartige Temperaturen, so kann man schlechterdings nicht von einer leichten Zersetzlichkeit reden. Es kann also die von mir als Oxypyridinursäure bezeichnete Substanz nicht in vitro etwa durch Ansäuern des Harns oder Ausäthern aus Chinolinderivaten erst entstanden sein. Der hohe N-Gehalt von 14% und die Tatsache, daß Pyridinderivate als Ureidsäuren ausgeschieden werden, rechtfertigt die Annahme einer Kuppelung mit Glykokoll. Sowohl das Oxyatophan als diese Oxypyridinursäure geben die Diazoreaktion und sind daher auch die Träger dieser im Atophanharn auftretenden Reaktion.

Außer diesen beiden Substanzen konnte ich noch eine dritte, die OH-Gruppe nicht führende Säure isolieren. Ihre außerordentliche Schwerlöslichkeit in Eisessig gestattete ihre Trennung von den anderen beschriebenen Substanzen; sie

schmilzt bei 310° und enthält nach ihrer Analyse 70,57 % C, 6,88 % H und 3,96 % N. Diese Zusammensetzung läßt auf ein Chinolinderivat schließen, doch gelang es mir bisher nicht, eine Formel für dasselbe zu finden.

Einen Beweis dafür, daß jenes von mir aus dem Harn isolierte Oxyatophan die OH-Gruppe in Stellung 8 führt, ist meines Erachtens darin zu erblicken, daß aus Harn nach Verabreichung von 8-Methoxy-2-phenylchinolin-4-carbonsäure sich die gleiche OH-haltige Säure isolieren läßt. Wir wissen, daß Entmethylierungen von der Sauerstoffbindung leicht im Organismus vor sich gehen, z. B. geht Guajacol in Brenzcatechin über. In unserem Falle war demnach folgender Vorgang geschehen:

COOH, C_6H_5, OCH_3, N ⟶ COOH, C_6H_5, N, OH

Analyse:		C	H	N
	gefunden:	72,67 %	4,19 %	5,49 %
	berechnet:	72,45 %	4,15 %	5,28 %

Größere Mengen Harn nach Einnahme der 6-Methyl-2-phenylchinolin-4-carbonsäure sind von mir in gleicher Weise verarbeitet worden. Auch hier fanden sich mehrere Produkte vor. Zunächst eine bei 226° schmelzende Säure ohne Hydroxylgruppe, die ohne weiteres als das verabreichte Produkt anzusehen ist, das den Körper unverändert passiert hatte. Die Stickstoffbestimmung verlangt 5,23 % und ergab 4,94 % Stickstoff.

Außer diesen beiden Säuren fand sich noch eine Säure ohne Hydroxylgruppe vom Schmelzpunkt 325°. Sie wurde aus viel Eisessig umkrystallisiert. Ihre Analyse ergab 66,50 % und 66,61 % C, 3,72 % und 3,80 % H, 12,57 % und 12,56 % N, wobei die beiden analysierten Produkte aus zwei verschiedenen Harnen stammten. Auch hier war es noch nicht möglich, eine Formel aufzustellen. Nach Gewinnung größerer Mengen soll die Frage weiter bearbeitet werden. Die Tatsache, daß aus Atophanharn sowie aus Harn nach Einnahme von methyliertem Atophan Säuren ohne die von W. Skorczewski und J. Sohn

angegebene Farbreaktion zu isolieren sind, entspricht der Beobachtung genannter Autoren, daß nach längerem Darreichen von Atophan der Harn die charakteristischen Farbreaktionen verliert.

Aus den zahlreich isolierten und verschieden konstituierten Säuren ist zu ersehen, daß die außerordentliche Vielseitigkeit des Abbaues von phenylierten Chinolinsäuren, die bereits im Reagensglase möglich ist, auch im Organismus stattfindet. Es geht daraus hervor, daß einerseits das Atophanmolekül am Benzolkern oxydiert wird, daß andererseits der Benzolkern selbst der Oxydation anheimfallen kann und daß letztens nur die Phenylgruppe aus dem Molekül abgespalten wird. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Abbaubedingungen im Organismus jeweils wechseln und daß also ein Mal der Abbau mehr in dieser, ein anderes Mal mehr in jener Richtung verläuft, wofür das Verschwinden der Diazoreaktion im Harn bereits spricht. Vielleicht werden durch Untersuchungen von anderer Seite meine Angaben erweitert und bestätigt.

Beitrag zur Kenntnis des Lipoidgehaltes der Placenta.

Von

Bianca Bienenfeld.

(Aus dem Laboratorium der Spiegler-Stiftung und der I. Frauenklinik in Wien.)

(Eingegangen am 23. Juni 1912.)

Die Schwangerschaft geht bekanntermaßen mit Veränderungen des Fettstoffwechsels einher.

Die Befunde von fettiger Infiltration der Leber (Hofbauer), fettiger Degeneration des Herzens (Virchow), der Aortenintima (H. W. Freund), der Niere (v. Leyden, Chirié), der Deciduazellen und des Epithels des Uterus (Holsti) sind wiederholt festgestellt worden und haben im Verein mit den Befunden von dem gesteigerten Blutfettgehalt Gravider (Nasse, Capaldi, Bar u. a.) zu der Vorstellung einer physiologischen Fettspeicherung bei der graviden Frau geführt, die „verursacht sei durch eine progressiv erhöhte, intracellulär bedingte Zelltätigkeit in der Schwangerschaft" [Kawamura[1])]. Neuere Untersuchungen haben die Aufmerksamkeit nicht nur auf die Verfettung durch die bekanntlich isotropen Neutralfette, sondern auch auf das vermehrte Auftreten lipoider anisotroper Substanzen in der Schwangerschaft gelenkt.

Die Untersuchungen von Neumann und Herrmann[2]) haben gezeigt, daß die physiologische Gravidität von einer gesteigerten Lipoidämie (kenntlich an einer Trübung des Alkoholextraktes des Blutes durch Zusatz von H_2O, verdünntem und salzsaurem Alkohol, konzentrierter H_2SO_4 und HNO_3) begleitet ist; als Träger dieser Reaktion nehmen sie, gestützt auf den Ausfall der Salkowskischen Reaktion und das Untersuchungsergebnis der schon aus kleinen Blutmengen isolierbaren Krystalle

---

[1]) R. Kawamura, Die Cholesterinesterverfettung 1911. Jena bei G. Fischer.

[2]) J. Neumann und E. Herrmann, Wiener klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 12.

das vermehrte Auftreten von Cholesterinestern im Blute Gravider an. Auch Chauffard, Laroche und Grigaut[1]) konstatierten eine Hypercholesterinämie in der Schwangerschaft.

Mit Rücksicht auf die Veränderungen des Lipoid-, speziell des Cholesterinkreislaufes in der Schwangerschaft schien es nicht uninteressant, auch das der Schwangerschaft eigene Organ, die Placenta, in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, zumal über ihren Lipoidgehalt nur wenige Angaben existieren.

Die Methode von Windaus[2]), die auf der Schwerlöslichkeit der komplexen Digitonin-Cholesterinverbindung beruht, gestattet ferner eine quantitative Bestimmung des freien Cholesterins und nach Verseifung der Cholesterinester mit Natriumalkoholat auch des gebundenen Cholesterins, so daß wenigstens die Gruppe der Sterine innerhalb der Lipoide quantitativ ausgewertet werden konnte.

Unsere Untersuchungen betrafen zunächst reife Placenten, dann völlig von Blut ausgewaschene Placenten, dann solche aus den ersten Schwangerschaftsmonaten, ferner Placenten von Eklamptischen und von Luetischen, die dem Material der Klinik Hofrat Schautas entstammten.

Bei der Verarbeitung des Materials kam es zunächst darauf an, die Placenten von ihrem Blutgehalt zu befreien. Da es unmöglich erscheint, durch Durchspülung der Nabelgefäße mit physiologischer Kochsalzlösung die Placenta völlig blutleer zu machen, haben wir die Placenten in der gleichen Weise vorbehandelt, die jüngsthin Koelker und Slemons[3]) bei der Bestimmung der Aminosäuren der Placenta angewandt haben.

Die frisch geborenen Placenten wurden nach sorgfältiger Entfernung der Nabelschnur und der Eihäute mit der Schere und nach Entfernung der Blutklumpen durch leichten Druck mit den Händen ausgerungen, sodann in kleine Stücke geschnitten, diese in physiologischer Kochsalzlösung verteilt und durch ein Leinentuch gepreßt, welcher Vorgang dreimal wiederholt wurde. Die Stücke wurden hierauf durch die Fleischmaschine geschickt und der gewogene Placentabrei nach dem

---

[1]) Chauffard, Laroche und Grigaut, L'obstétrique, Mai 1911.

[2]) A. Windaus, Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 110, 1910.

[3]) A. Koelker und J. M. Slemons, Journ. of Biol. Chem. 9, 471, 1911.

Verfahren, das S. Fraenkel und A. Elfer[1]) für die Serumtrocknung angegeben haben, mit einer gewogenen Menge geglühtem wasserfreien Natriumsulfat verrieben. Da ein Teil Natriumsulfat 10 Teile Wasser bindet, wird das Organwasser des Gewebebreies dadurch an Natriumsulfat gebunden und es gelingt bei gewöhnlicher Temperatur, ein völlig trockenes Pulver herzustellen. Der mit der gleichen Menge Natriumsulfat verriebene Placentarbrei erstarrt nach mehrstündigem Stehen zu einem steinharten Block, der sich leicht pulverisieren läßt. Derselbe wurde durch ein Haarsieb getrieben und sodann weiter verarbeitet. Auf diese Weise wurde ein völlig trockenes, fein pulverisiertes Placentarpulver erhalten, das sich zur Extraktion der Lipoidstoffe eignet.

Die gesammelten Mengen der Placenten wurden nun im Universalextraktionsapparat — es wurde hierzu der von Walter Halle[2]) angegebene Apparat benutzt — mit bis 60° siedendem Petroläther durch fünf Tage extrahiert. Wir machten den Versuch, nach der Petrolätherextraktion die extrahierte Masse mit Alkohol zu extrahieren, aber der Alkoholextrakt gab keinen Rückstand von Lipoiden mehr, so daß wir annehmen können, sämtliche lipoide Stoffe mit Petroläther extrahiert zu haben.

Die Gesamtmenge des Petrolätherextraktes wurde nach Filtration auf 100 ccm eingeengt. In 10 ccm dieses Extraktes wurde der Gesamtgehalt an Neutralfett und Lipoiden durch Trocknen bei 100° zur Gewichtskonstanz bestimmt. In weiteren je 10 ccm wurde der Gehalt an P nach Neumann oder nach Woy, an N nach Kjeldahl und an freiem und als Ester gebundenem Cholesterin nach Windaus bestimmt.

Bestimmungen des Wassergehaltes ergaben in den reifen Placenten, sowie in denen von Eklamptischen und Luetischen übereinstimmend in mehreren Proben einen Wassergehalt von 81,8°/₀, demgegenüber ergab sich im Placentargewebe der aus den ersten Schwangerschaftsmonaten stammenden Placenten ein solcher von 86,7°/₀.

Der Wassergehalt von vier reifen Placenten, die nach dem früher beschriebenen Verfahren vorbehandelt und deren Placenta-

[1]) S. Fraenkel und A. Elfer, diese Zeitschr. 28, 330, 1910.

[2]) W. Halle, diese Zeitschr. 36, 245, 1911.

brei überdies zur möglichst vollständigen Entblutung in 10 l physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren, wurde mit 80,9% bestimmt.

Die Angaben in der Literatur [Gaube[1]), Taltavall und Gies[2]), Higuchi[3]), Sfameni[4]), Koelker und Slemons] ergaben für die reife Placenta einen Wassergehalt von 82,8 bis 88%.

Wir haben sonach für die reife Placenta einen Wassergehalt von 81,8%, für die gewaschene reife einen solchen von 80,9% und für die Placenten aus den ersten Schwangerschaftsmonaten einen solchen von 86,7% ermittelt.

Zur Untersuchung auf Lipoide verwendeten wir das vereinigte Placentar-Natriumsulfatpulver von fünf Placenten von am normalen Ende entbundenen Frauen, vier vereinigte reife gewaschene Placenten, acht vereinigte Placenten aus den ersten Graviditätsmonaten, vier vereinigte Placenten von Eklamptischen und drei vereinigte Placenten von Luetischen.

Die Bestimmung der Gesamtmenge von Neutralfetten und Lipoiden, die durch Trocknen von 10 ccm Petrolextrakt bei 100° bestimmt wurden, ergab nun, berechnet auf die Trockensubstanz der

reifen Placenta	4,41%
reifen gewaschenen Placenta . .	3,95%
Placenten von Frühgraviden . .	8,59%
„ „ Eklamptischen .	5,25%
„ „ Luetischen . . .	3,60%

Neutralfette und Lipoide.

Somit ergibt sich für die reife Placenta in der Trockensubstanz 4,41% Neutralfett und Lipoide, die gewaschene Placenta zeigt den etwas geringeren Gehalt von 3,95%.

Unsere Untersuchungen ergaben ferner:

Während die reife Placenta, auf Trockensubstanz berechnet, 4,41% Fett und Lipoide enthält, findet sich in der Trocken-

[1]) J. Gaube, zit. bei Koelker und Slemons.

[2]) Taltavall und Gies, N. Y. Med. Journ. **86**, 1907.

[3]) S. Higuchi, diese Zeitschr. **15**, 95, 1909.

[4]) P. Sfameni, Arch. ital. de biol. **34**, 216, 1900.

substanz des Placentargewebes aus den ersten Schwangerschaftsmonaten 8,59%, somit nahezu das Doppelte der am Ende der Schwangerschaft in der Placenta vorhandenen Fett- und Lipoidmenge.

Unsere chemischen Untersuchungen haben für die histologisch fettreicheren Placenten aus den ersten Gestationsmonaten einen höheren Gehalt an Petrolätherextrakt als für die auch histologisch fettärmere reife Placenta festgestellt und sonach eine Koinzidenz zwischen chemisch ermitteltem Nachweis und histologisch von J. Bondi[1]) gewonnener Schätzung des Fettgehaltes der Placenta ergeben.

Über das Bestehen einer Übereinstimmung zwischen chemisch bestimmtem und histologisch sichtbar gemachtem Fettgehalt der Organe bestanden lange Zeit differente Ansichten. Wie die jüngsten Untersuchungen von N. Shibata und S. Endo[2]) diesbezüglich ergeben haben, ist der angenommene Widerspruch zwischen histologischer Schätzung und chemischer Bestimmung als unbegründet zurückzuweisen, denn den histologisch fettreicheren Organen entsprachen auch in ihren Bestimmungen (Leber, Niere) hohe Zahlen der Petrolätherextrakte, den Organen mit wenig sichtbaren Fettsubstanzen sehr kleine Fettzahlen.

Wir lassen nun unsere weiteren Resultate folgen.

Tabelle I.

In Prozent der Trockensubstanz	Petroläther-extr. (Summe d. Lipoide u. Neutralfette) g	Cholesterin (frei) g	Cholesterin (als Ester gebunden) g	Berechnet f. Cholesteryl-stearat g	P_2O_5 g	Berechnet für Lecithin g	N g
Von normalen Placenten	4,41	0,301	0,072	0,120	Spuren	—	0,0016
Von gewaschenen norm. Placenten	3,95	0,254	0,064	0,111	„	—	0,0016
Von Placenten Frühgravider	8,59	0,495	0,751	1,248	0,07	0,75	nicht bestimmt
Von Placenten Eklamptischer . .	5,25	0,155	0,108	0,179	0,0101	0,11	0,0017
Von Placenten Luetischer	3,59	0,288	0,064	0,111	0,033	0,35	0,0026

[1]) J. Bondi, Arch. f. Gyn. 93, 189, 1911.

[2]) N. Shibata und S. Endo, diese Zeitschr. 37, 399, 1911.

Tabelle II.

Auf frisches Placentargewebe gerechnet ergibt sich sonach nach Bestimmung des Wassergehaltes der normalen, eklamptischen und luetischen Placenten mit 81,8%, der gewaschenen mit 80,9% und der Placenten Frühgravider mit 86,7% folgende Tabelle.

In Prozent des Placentargewebes	Petroläther-extrakt g	Chol-esterin (frei) g	Chol-esterin (als Ester-gebunden) g	P_2O_5 g	N g
normaler Placenten	0,80	0,055	0,013	Spuren	0,0003
gewaschener norm. Placenten . . .	0,75	0,049	0,013	„	0,0003
Placenten Frühgravider	1,14	0,066	0,100	0,002	nicht bestimmt
Placenten Eklamptischer	0,96	0,029	0,020	0,0018	0,0003
Placenten Luetischer	0,65	0,052	0,012	0,006	0,0005

Chemische Untersuchungen über den Fettgehalt der Placenta liegen von Higuchi[1]), Mohr und Freund[2]) und Polano[3]) vor. Higuchi untersuchte nach dem Fettextraktionsverfahren von Kumagawa-Suto drei nichtgewaschene Placenten nach Knabengeburten und fand im Durchschnitt 0,798% der Trockensubstanz im Alkoholätherextrakt, nach Mädchengeburten 0,893% und in einer gewaschenen Placenta 0,533%. Während sonach Higuchi im Alkoholätherextrakt nicht einmal 1% der Trockensubstanz an Fett fand, haben Mohr und Freund in vier Placenten vom Trockengewicht von 35 g 3,5 g Ätherextrakt, somit entsprechend 10% der Trockensubstanz, an Fett ermittelt.

Wir haben in dem Petrolätherextrakt der reifen Placenta 4,4% der Trockensubstanz an Neutralfett und Lipoiden, in der gewaschenen Placenta 3,9% festgestellt.

Unseren Befunden nähern sich auch diejenigen von Polano[3]), der im Petrolätherextrakt zweier normaler Placenten die Werte von 6,5% und 6,3% der Trockensubstanz an Fett fand.

Eine Zusammenstellung der Organe nach ihrem Lipoidreichtum ergibt an erster Stelle das Nervengewebe. Linnert[4]) fand im Schweine-

[1]) S. Higuchi, diese Zeitschr. **17**, 41, 1909.

[2]) L. Mohr und R. Freund, Berl. klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 40.

[3]) O. Polano, Zeitschr. f. Geb. u. Gyn. **65**, 581, 1910.

[4]) K. Linnert s. S. Fraenkel, Über Lipoide XI. Diese Zeitschr. **26**, 1910.

hirn 62 g Lipoide auf 100 g Trockensubstanz und im Menschenhirn zwei Drittel der Gehirntrockensubstanz aus Lipoiden und nur ein Drittel aus eiweißartigen Substanzen bestehend. Im Rückenmark fand Dimitz[1]) bis 68% Lipoide.

Nächst dem Nervensystem ist es die Nebenniere, die sich nach den Untersuchungen Biedls[2]) durch einen Gehalt von 38,8% Lipoide auszeichnet.

An dritter Stelle ist das Corpus luteum zu nennen. Nach Wallart[3]) gehen 20% der Trockensubstanz der Luteinkörper frischer Ovarien gravider Kühe in den Ätherextrakt über.

Der Niere entspricht nach den Untersuchungen von Shibata und Endo ein Petrolätherextrakt von 2,0 bis 6,6%, der Leber ein solcher von 2,7 bis 8,4% der feuchten Substanz im Durchschnitt.

Mit dem von uns gefundenen Lipoidgehalt von 4,4 g in 100 g Trockensubstanz, respektive 0,8 g in 100 g feuchter Substanz, zählt die Placenta zu den wenig lipoidreichen Organen.

Was den Lecithingehalt betrifft, so haben wir in dem Petrolätherextrakt der reifen, sowie in dem der reifen völlig gewaschenen Placenta nur Spuren von Phosphor nachweisen können und befinden uns damit in Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Mohr und Freund, die gleichfalls in der Placenta nur Spuren organisch gebundenen Phosphors fanden. Der Gehalt der reifen Placenta an Phosphatiden ist sonach ein geringer.

Die Bestimmung des freien und als Ester gebundenen Cholesterins in der normalen Placenta ergab nach unseren Untersuchungen einen Gehalt von 0,301% Trockensubstanz an freiem und 0,072% in Esterform gebundenem Cholesterin. Berechnen wir das gebundene Cholesterin ($C_{27}H_{44}O$) als Chlolesterin-Stearinsäure-Ester (Cholesterylstearat) [$C_{44}H_{78}O_2$], wobei wir in der Voraussetzung, daß das gesamte gebundene Cholesterin an Stearinsäure und nicht an Palmitin- und Ölsäure gebunden sei, bei der geringen Differenz des Molekulargewichtes der Stearin-, Palmitin- und Ölsäure keinen wesentlichen Fehler begehen, so ergeben 0,072% gebundenes Cholesterin 0,120% Cholesterylstearat. Für die gewaschene Placenta (in der Summe von 4 Placenten) ergab sich 0,254% freies und 0,064% gebundenes Cholesterin gleich 0,111% Cholesterylstearat.

[1]) L. Dimitz s. S. Fraenkel, Über Lipoide XIII. Diese Zeitschr. 28, 1910.

[2]) A. Biedl, Innere Sekretion 1910. Wien bei Urban & Schwarzenberg.

[3]) J. Wallart, Hegars Beitr. z. Geb. u. Gyn. 1909, Nr. 14.

Das Verhältnis des freien zum gebundenen Cholesterin ist sonach in den erstuntersuchten Placenten 1 : 0,239, in den gewaschenen 1 : 0,264.

Mohr und Freund haben in dem obenerwähnten Ätherextrakt aus 4 Placenten in 3,5 g Ätherextrakt 0,6 g Cholesterin = 1,71 % der Trockensubstanz gefunden. Es ist aber nicht näher angegeben, mit welcher Methodik sie diese fast fünfmal so große Menge, als wir sie gefunden, gewonnen haben.

Higuchi hat auf indirektem Wege einen gewissen Cholesteringehalt der Placenta angenommen, da der Placentarbrei schon ohne Erwärmen pro 50 g Placenta die Menge von 10 g Sapotoxin völlig zu entgiften vermag; die Erklärung hierfür bietet die Verankerung der Saponinsubstanzen an das Cholesterin der Placenta.

Bestimmungen des Cholesteringehalts der verschiedenen Organe liegen zwar schon vor, bekanntlich kommt Cholesterin in fast allen tierischen Säften und Organen vor, sie sind aber nur zum geringen Teil nach der quantitativen Methode von Windaus ausgeführt worden.

So betont Chvostek[1]), daß Cholesterinbestimmungen des normalen menschlichen Blutes nach Windaus noch nicht vorliegen; er fand in einem Falle von Xanthelasma in 100 g Blut 0,256 % freies und 0,0097 % als Ester gebundenes Cholesterin. Klemperer[2]) hat im Blute 0,06 % Cholesterin, das bei Verdauungslipämie auf 0,3 %, bei Diabetes auf 0,2 bis 2 % steigt, nach Windaus nachgewiesen.

Im Gehirn ergibt sich der höchste Cholesteringehalt von 12,2 % der Trockensubstanz (Linnert), in Nieren (Klemperer-Umber) ein solcher von 0,2 bis 0,35 %, in Amyloidnieren (Aschoff-Windaus) von 0,27 bis 0,33 % freiem und 0,09 bis 0,65 % gebundenem, in Aorten [Windaus[3])] von 0,1 freiem und 0,05 bis 0,03 % gebundenem Cholesterin.

Die Cholesterinuntersuchungen der Placenta sind insofern von Interesse, als — wie schon einleitend erwähnt — die Schwangerschaft Veränderungen im Fett- und speziell im Cholesterinkreislauf schafft und sich bereits vom Ende des 3. Graviditätsmonats an im Blute eine Vermehrung an Cholesterin und Cholesterinestern nach den Untersuchungen von Neumann und Herrmann und den eingangs zitierten französischen Autoren zeigt.

Es sei ferner erwähnt, daß auch nach den Beobachtungen von H. A. Klein[4]) beim Huhn die größten Cholesterinmengen im Stoffwechsel des eierlegenden Huhnes erscheinen. Ein Ei enthält 0,25 bis 0,3 g

---

[1]) F. Chvostek, Zeitschr. f. klin. Med. 73, Heft 5 und 6.

[2]) G. Klemperer, Deutsche med. Wochenschr. 1910, Nr. 51, S. 2373.

[3]) A. Windaus, Zeitschr. f. phys. Chem. 67, Heft 2, 1910.

[4]) H. A. Klein, diese Zeitschr. 29, 1910.

Cholesterin, gute Hühner legen in 3 Tagen 2 Eier, somit geben sie in 24 Stunden 0,2 bis 0,3 g Cholesterin ab, für das an eine Neubildung gedacht werden muß, da die Aufnahme mit der Nahrung für die große Abgabe nicht ausreicht.

Aus unseren Untersuchungen läßt sich nun feststellen, daß im Gegensatz zu der Cholesterin- und Cholesterinester-Vermehrung im Blute im Laufe der Schwangerschaft der Gehalt der Placenta an Cholesterin und Cholesterinestern im Verlauf der Schwangerschaft abnimmt.

Während nämlich 100 g Trockensubstanz der Placenten aus den ersten Schwangerschaftsmonaten ein Gehalt von 0,495 g freiem und 0,751 g gebundenem Cholesterin entspricht, enthalten 100 g der Trockensubstanz der reifen Placenta 0,301 g freies und 0,072 g gebundenes Cholesterin. Die Placenten aus den ersten Schwangerschaftsmonaten zeigen sonach einen über zehnmal so großen Gehalt an esterförmig gebundenem Cholesterin als die reife Placenta.

Auch ließ sich im Petrolätherextrakt der Placenten Frühgravider der verhältnismäßig hohe Gehalt von 0,07 % P_2O_5 = 0,75 % Lecithin (bezogen auf Trockensubstanz) nachweisen, während sich in dem Petrolätherextrakt der reifen Placenten nur Spuren von Phosphor fanden.

Es befindet sich sonach die Placenta im Gegensatz zu fast allen mütterlichen Organen, in denen es im Verlauf der Schwangerschaft zur Verfettung durch Neutralfette oder Lipoide kommt oder kommen kann.

Besonders fällt hierbei der Gegensatz zur Nebenniere auf, in der Albrecht und Weltmann[1]) am Ende der Schwangerschaft in sehr reichlichem Maße doppeltbrechende Substanzen, die durch die Anwesenheit von Cholesterinestern bedingt sind, nachweisen konnten und die sie als eine Quelle der in der Schwangerschaft konstatierten Hypercholesterinesterämie ansehen.

Placenten von Eklamptischen.

Was nun die Placenten von Eklamptischen betrifft, so ergab sich, auf Trockensubstanz bezogen, ein Gehalt von 5,25 % Neutralfett und Lipoide, 0,155 % freiem und 0,108 % als Ester

---

[1]) H. Albrecht und O. Weltmann, Wiener klin. Wochenschr. 1911, S. 483.

gebundenem Cholesterin (= 0,179% Cholesterylstearat.) Die Placenten von Eklamptischen erweisen sich sonach als etwas lipoidreicher, enthalten dagegen weniger freies und mehr gebundenes Cholesterin als die normale Placenta.

Auffallend ist ferner der Gehalt an Phosphor, indem sich im Petrolätherextrakt von 100 g Trockensubstanz 0,01 g P_2O_5 = 0,0083 g P_2O_5 in 100 g feuchter Substanz fanden. Es ergibt sich daraus für die Eklampsieplacenta ein Lecithinwert von 0,11% Trockensubstanz, während sich im Petrolätherextrakt normaler Placenten nur Spuren von Phosphor fanden.

Placenten von Luetischen.

Bei luetischen Placenten fanden wir einen Lipoidgehalt, der etwas geringer war als der der normalen reifen Placenta. Der Gehalt an freiem sowie an gebundenem Cholesterin war nahezu gleich dem der normalen Placenta. In 100 g Trockensubstanz fanden sich 0,033 g P_2O_5 = 0,35% Lecithin.

Unsere Untersuchungen ergaben sonach: Der Petrolätherextrakt der Placenta schwankt zwischen 3,59 g und 8,59 g auf 100 g Trockensubstanz; er ist am höchsten bei den Placenten von Frühgraviden, dann folgen die von Eklamptischen und er ist bei normalen und luetischen Placenten nahezu gleich.

Der Gehalt an freiem Cholesterin bewegt sich zwischen 0,155 g und 0,495 g auf 100 g Trockensubstanz und ist am höchsten bei den Placenten Frühgravider, am niedrigsten bei denen Eklamptischer; zwischen normalen Placenten und denen Luetischer findet sich kein Unterschied.

Der Gehalt an als Ester gebundenem Cholesterin variiert zwischen 0,064% und 0,751% Trockensubstanz und ist am höchsten bei den Placenten Frühgravider, dann folgen die Placenten Eklamptischer, bei den Placenten normaler und luetischer Frauen ist er gleich.

Es verringert sich sonach im Laufe der Schwangerschaft der Gehalt der Placenta an Petrolätherextrakt, Cholesterin und Cholesterinestern, wobei der besondere Gehalt der Placenta Frühgravider an Cholesterinestern auffällt.

Während sich ferner im Petrolätherextrakt reifer Placenten Phosphor nur in Spuren nachweisen läßt, findet sich eine starke

Vermehrung der Phosphatide in den Placenten Frühgravider, Eklamptischer und Luetischer.

Berechnen wir den Gehalt an Lipoiden, indem wir den Gehalt an Cholesterin, Cholesterylstearat und Lecithin summieren, so ergibt sich für die reife Placenta ein Gehalt von 0,42 % Trockensubstanz an Lipoiden; Placenten Frühgravider geben die höchsten Werte (2,49 %) an Lipoiden; der Gehalt der Placenten Eklamptischer an Lipoiden (0,44 %) ist gleich dem der normalen Placenten, luetische Placenten (0,75 %) geben etwas höhere Werte als die normale Placenta; dabei ist die Vermehrung der Lipoide bei den Placenten Luetischer auf ihren größeren Gehalt an Lecithin, bei denen Frühgravider nebst dem Vorhandensein von Lecithin auf die Vermehrung der Cholesterinester zu beziehen.

Subtrahieren wir die gefundenen Lipoidzahlen vom Gesamtpetrolätherextrakt, so ergeben die Zahlen des resultierenden Neutralfettes für die Placenten aus den ersten Graviditätsmonaten die höchsten Werte (6,097 %) und übertreffen die reife Placenta (3,99 %) weitaus, was im Einklang steht mit den histologisch gewonnenen Fettfärbungsergebnissen, woraus zu ersehen ist, daß auch die Menge des Neutralfettes in der Placenta während der Schwangerschaft abnimmt. Eklamptische Placenten zeigen einen etwas höheren (4,8 %), luetische einen etwas geringeren Gehalt (2,84 %) an Neutralfett als die normale Placenta.

Vergleichende Untersuchungen über junge und alte rote Blutkörperchen.

Resistenz und Regeneration.

Von

J. Snapper.

(Aus dem Physiologischen Institut in Groningen.)

(Eingegangen am 24. Juni 1912.)

Mit 3 Figuren im Text.

In den letzten Jahren sind einige wertvolle Untersuchungen ausgeführt worden über die Eigenschaften, die die jungen Erythrocyten gegenüber den alten kennzeichnen. Hamburger und Ubbels[1]) haben dazu die Differenzen zwischen dem mütterlichen und dem foetalen Blut benutzt. Sie finden beim Foetus Erythrocyten, die eine größere Resistenz gegen hypotonische Salzlösungen haben als die resistentesten der Mutter. Diese Resistenzunterschiede[2]) haben spätere Arbeiten auf anderem Wege bestätigt.

Die neueren Untersuchungen haben sich mehr mit den jungen Blutkörperchen, die nach Blutverlusten auftreten, beschäftigt. Diese Blutverluste wurden auf zwei Weisen erzeugt: erstens durch Injektionen von salzsaurem Phenylhydrazin. Diese verursachen schon nach 5 oder 6 Einspritzungen eine sehr beträchtliche Anämie, weil durch das Phenylhydrazin ein Zerfall der Blutkörperchen im Tierkörper stattfindet. Zweitens hat man durch wiederholte Aderlässe die Tiere anämisch gemacht. Hierbei findet man natürlich keinen Zerfall der Blutzellen im Körper.

---

[1]) Ubbels, Inaug.-Dissertation. Gießen (Utrecht) 1901. — Siehe Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre **1**, 186.

[2]) Mit Resistenz wird in dieser Abhandlung nur die Resistenz gegen hypotonische Salzlösungen angedeutet.

Dieser Unterschied ist wahrscheinlich die Ursache, daß bedeutende Differenzen zwischen der Phenylhydrazinanämie und der Aderlaßanämie zu finden sind. Im ersten Falle verläuft die Blutregeneration erheblich schneller als im zweiten[1]), wie die Zählung der Erythrocyten leicht ergibt. Die größere Intensität der Regeneration bei der Giftanämie wird auch noch durch zwei andere Tatsachen betont. Jtami und Pratt[2]) fanden nach einigen wenigen Phenylhydrazininjektionen schon eine wesentlich erhöhte Resistenz des Blutes gegen hypotonische Salzlösungen. Sie sahen, daß nach den Gifteinspritzungen Blutkörperchen im Blut auftreten, die einer Salzlösung von niedrigerer Konzentration widerstehen können als die resistentesten des normalen Blutes. Bei der Anämie nach wiederholten Aderlässen konnten sie diese Erscheinung nicht oder nur in sehr geringem Maße beobachten[3]).

Hiermit in gutem Einklang stehen die Resultate, die Jtami später veröffentlicht hat. Nachdem Morawitz[4]) gezeigt hatte, daß das anämische Blut eine lebhafte Sauerstoffzehrung hat, während das normale Blut fast keinen Sauerstoff chemisch binden kann, benutzte Jtami[5]) den Grad der Sauerstoffzehrung als Maßstab für die Größe der Regeneration. Auch dabei ergibt sich, daß die Regeneration nach wiederholten Aderlässen viel kleiner ist als nach einigen Phenylhydrazininjektionen, im letzteren Falle ist die Sauerstoffzehrung des Blutes viel größer als nach wiederholten Aderlässen.

Bei den Resistenzbestimmungen, die für alle diese Untersuchungen angestellt sind, findet man stets nur Maximum- und Minimumresistenz angegeben.

Die Minimumresistenz ist die Konzentration der Salzlösung, bei der ein eben merkbarer Anfang von Farbstoffaustritt wahrzunehmen ist. Die Maximumresistenz ist die Konzentration, bei der alle Blutkörperchen aufgelöst sind.

Über den Grad der Hämolyse, der von einer beliebigen der zwischengelegenen Konzentrationen verursacht wird, ist nichts bekannt. Nur bei Hamburger und Ubbels (l. c.) ist

---

1) Ritz, Folia Haematologica 8.
2) Jtami und Pratt, diese Zeitschr. 18.
3) Siehe auch Sattler, Folia Haematologica.
4) Morawitz, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 60.
5) Jtami, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62.

ein dritter Wert notiert, und zwar die Konzentration, bei der ein deutlicher Farbstoffaustritt sichtbar ist. Durch nähere Analyse dieser Zwischenstufen tiefer in das Wesen der Resistenzerhöhung des anämischen Blutes einzudringen, ist Ziel dieser Arbeit.

Methodik.

Die dazu gebrauchte Untersuchungsmethode ist ungefähr dieselbe die Arrhenius für seine quantitativen Hämolysestudien erfunden hat[1]). Es wurde nur mit Kaninchenblut gearbeitet. Das Blut wurde durch Aderlaß aus der Ohrvene gewonnen und in einer offenen Schale durch Schlagen mit zwei Glasstäbchen defibriniert.

Eine Reihe Zentrifugierröhrchen (Inhalt 20 ccm) wurde mit je 5 ccm Kochsalzlösung beschickt, deren Konzentration um je 0,02% voneinander differierte. Diese NaCl-Lösungen wurden jeden Tag frisch hergestellt durch Verdünnung einer 1%igen NaCl-Lösung. Auch diese 1%ige NaCl-Lösung wurde zweimal in der Woche frisch gemacht und überdies mit $AgNO_3$ titriert. Zwei Büretten wurden gefüllt, die eine mit der 1%igen NaCl-Lösung, die andere mit Aqua destillata. Sehr leicht kann man sich durch Vermischen dieser beiden Lösungen 5 ccm der gewünschten Konzentration herstellen. Zu diesen 5 ccm Salzlösung wurde dann 0,1 ccm Blut hinzugefügt.

Nachdem die Röhrchen 2 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten und inzwischen einmal umgeschüttelt waren, wurde abzentrifugiert. Die Menge Hämoglobin, die in jedem Röhrchen in Lösung gegangen war, wurde jetzt mit der Methode von Arrhenius bestimmt.

Anfangs hatte ich in Gemeinschaft mit Herrn Buytendyk für eine andere Untersuchung versucht, diesen Hämoglobingehalt mit dem Hilgerschen Hämospektroskop zu bestimmen. Diese objektive Hämoglobinbestimmung ist aber für diesen Zweck nicht brauchbar, weil sie erstens zu viel Zeit in Anspruch nimmt, und besonders, weil bei Bestimmung der Stärke des Absorptionsstreifens, die man für jedes Röhrchen getrennt anstellen muß, sehr schnell Ermüdung eintritt.

Die Methode von Arrhenius dagegen ist sehr einfach; sie lehrt allerdings nicht, wie die vorhergehende Methode, wieviel Gewichtsprozente Hämoglobin in Lösung sind, sondern aus ihr ergibt sich das Verhältnis, das besteht zwischen der Menge Hämoglobin, die sich in jedem Röhrchen in Lösung befindet, und der Menge Hämoglobin, die aus der zugesetzten Menge Blut maximal freigemacht werden kann. In dem Röhrchen, wo die Hämolyse vollständig ist, ist also 100% Hämoglobin in Lösung.

Man macht diese Konzentrationsbestimmung mit einer Farbenskala, die jeden Tag frisch bereitet wird. Dazu löst man $1^1/_2$ ccm des untersuchten Blutes in 150 ccm Aqua destillata auf. In dieser Stamm-

[1]) Arrhenius und Madsen, Zeitschr. f. physikal. Chem. 1903. — Vgl. auch Groß, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62.

lösung wird das Blut also 100 mal verdünnt, in den Röhrchen der Versuchsreihe (0,1 ccm Blut auf 5 ccm Salzlösung) nur 50 mal. Die Hämoglobinkonzentration der Stammlösung ist also die Hälfte der Hämoglobinkonzentration, die man im Versuchsröhrchen mit kompletter Hämolyse findet. Die Skala besteht aus Verdünnungen der soeben genannten Stammlösung. 20 Reagensgläschen (Durchmesser 14 mm) wurden mit $9^1/_2$ ccm, 9 ccm, $8^1/_2$ ccm, 8 ccm usw. Aq. dest. beschickt; dazu wurde $^1/_2$ ccm, 1 ccm, $1^1/_2$ ccm, 2 ccm usw. der Stammlösung zugefügt. Man bekommt also 20 Verdünnungen der Stammlösung. Weil in dem Röhrchen mit kompletter Hämolyse 100% Hämoglobin in Lösung gegangen sind, stimmt die Stammlösung mit 50% dieses Gehaltes überein. Die Konzentrationen der 20 Lösungen der Skala sind also 50%, $47^1/_2$%, 45% usw. bis $2^1/_2$% der Konzentration des Röhrchen mit kompletter Hämolyse.

Um die Hämoglobinmenge, die in jedem Röhrchen der Versuchsreihe freigemacht worden ist, zu bestimmen, wird abzentrifugiert. Dann wird von jedem Röhrchen die überstehende Hämoglobinlösung abpipettiert und in ein Reagensgläschen (Durchmesser 14 mm) übergeführt. Diese Hämoglobinlösung wird mit der Skala verglichen. Wenn nötig, wird verdünnt. Man sieht sehr scharf, zu welchem Gläschen der Skala jedes Gläschen des Hämolyseversuches gehört, wieviel Prozent also des Hämoglobingehaltes des zugefügten Blutes bei einer jeden Konzentration freigemacht worden ist.

Dieses Verfahren gibt also an, wieviel Prozent der maximal möglichen Menge Hämoglobin bei einer jeden Konzentration in Lösung gegangen ist. In dem Gläschen mit kompletter Hämolyse ist alles Hämoglobin aus den Erythrocyten getreten, d. h. es ist also 100% Hämolyse.

Die bei diesen Versuchen erhaltenen Werte kann man graphisch in einer Kurve aufzeichnen, deren Abszisse die NaCl-Konzentrationen und deren Ordinaten die Hämoglobinkonzentrationen sind (siehe Fig. 1, Tabelle A).

Tabelle A.

Quantität Hämoglobin bei einer beliebigen Konzentration in Lösung gegangen.

Bei	einer	0,63%igen	NaCl-Lösung	war	9%	Hämolyse
„	„	0,61 „	„	„	9 „	„
„	„	0,59 „	„	„	9 „	„
„	„	0,57 „	„	„	42 „	„
„	„	0,55 „	„	„	55 „	„
„	„	0,53 „	„	„	73 „	„
„	„	0,51 „	„	„	91 „	„
„	„	0,49 „	„	„	100 „	„

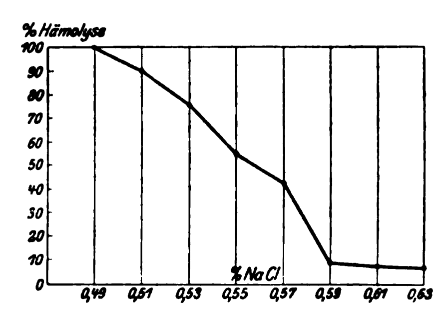


Fig. 1. Graphische Darstellung von Tabelle A.

Mit dieser Methode kann man die Resistenz der jungen Erythrocyten untersuchen.

Dazu wurde einem Kaninchen einigemal 10 bis 15 ccm Blut aus dem Ohr entzogen. Das Gewicht des Tieres ändert sich hierbei nicht, wenn man nur für gutes Futter und besonders für einen warmen Stall sorgt.

Nach jeder Blutentziehung wurde die Resistenz der Blutkörperchen auf die übliche Weise bestimmt. Die Größe der Hämolyse bei jeder Konzentration wurde in der oben beschriebenen Weise durch die Quantität des in Lösung gegangenen Hämoglobins bestimmt und dann in einer Kurve ausgedrückt. So bekommt man verschiedene Kurven mit typischen Differenzen. Die Kurve ist nach jeder Blutentziehung verschoben nach der Richtung der niedrigeren Konzentration (s. Fig. 4). Wenn z. B. am ersten Tage bei 0,51 % NaCl fast 70 % aufgelöst werden, so werden am zweiten Tag nur 35 % und am dritten Tag nur 10 % der Blutkörperchen bei dieser Konzentration aufgelöst. Und während am ersten Tag selbst die resistentesten Erythrocyten bei 0,47 % NaCl platzen, gibt es am zweiten und am dritten Tag viele, die noch niedrigere Konzentrationen vertragen können. So ergibt sich, daß nach einem Aderlaß die weniger resistenten Blutkörperchen abnehmen. Überdies erscheinen im Blute Erythrocyten, die vorher noch nicht da waren, wie sich aus ihrer Resistenz ergibt. Das müssen dann die neugebildeten Erythrocyten sein. Diese jungen Blutkörperchen — die also nach Aderlaß neugebildet sind — haben eine höhere Resistenz als die alten.

Tabelle B.

Größe der Hämolyse durch die verschiedenen NaCl-Lösungen verursacht bei dem normalen und dem anämischen Tier.

NaCl-Konzentration %	Prozente Hämoglobin, die in jedem Gläschen der Versuchsreihe freigemacht werden		
	1. Venesektion	2. Venesektion	3. Venesektion
0,57	12	12	—
0,55	18	12	—
0,53	42	19	—
0,51	67	37	10
0,49	80	66	25
0,47	98	75	40
0,45	—	84	67,5
0,43	—	91	90
0,41	—	100	100

1. Venesektion 26. III. 12: ——— 2. Venesektion 1. IV. 12: -----

3. Venesektion 3. IV. 12: —·—·—

Fig. 2. Graphische Darstellung von Tabelle B.

Auch über Volumen- und Hämoglobingehalt der jungen roten Blutzellen wäre mit dieser Methode noch etwas Näheres zu ermitteln. Wenn man zählt, wieviel Prozent der roten Blutkörperchen bei jeder Konzentration übrigbleiben und diese Zahl vergleicht mit dem Prozentgehalt an Hämoglobin, der bei dieser Konzentration in Lösung gegangen ist, dann könnte man entscheiden, ob junge Erythrocyten mehr oder weniger Hämoglobin enthalten als alte. Wären z. B. die alten, d. h. die weniger resistenten Blutkörperchen hämoglobinreicher, dann würde in den konzentrierteren Lösungen relativ mehr Hämoglobin in Lösung gehen als in den weniger konzentrierteren.

Ich habe eine große Zahl solcher Messungen angestellt und daraus ergab sich, daß diese Zahlen im allgemeinen gut übereinstimmen. Aus diesem Resultat ist aber kein endgültiger Schluß zu ziehen, da die Zählmethode (Zeiß-Thoma) immer Fehler, von mindestens 5%, gibt. Hierdurch entstehen Schwankungen nach beiden Seiten, die eine sichere Entscheidung unmöglich machen. —

Mit dem Hämatokrit könnte man eventuell Volumenunterschiede zwischen jungen und alten Blutkörperchen ermitteln durch Messung des Totalvolumens der übriggebliebenen Blutzellen in Vergleich zu der Zahl der übriggebliebenen. Auch solche Versuche habe ich vielfach ausgeführt, und hierbei stimmten die Werte gut überein, aber mit denselben Schwankungen wie bei der Bestimmung des Hämoglobingehaltes der jungen Blutkörperchen; etwaige Schlüsse wären daher mit derselben Unsicherheit belastet. — Am ehesten, glaube ich, darf man eine Gleichheit des mittleren Volumen von jungen und alten Blutkörperchen annehmen. Diese Annahme hat allerdings etwas Auffallendes, da nicht publizierte Untersuchungen im hiesigen Institute von Hamburger und Kooy zeigen, daß junge Blutkörperchen einen größeren Durchmesser haben als alte; es müßten nämlich dann die jungen Blutkörperchen dünner sein als die alten.

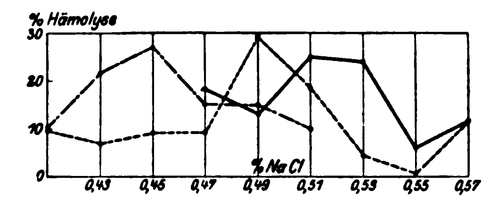
Auch über die Art der Regeneration kann man mit diesem Verfahren noch einige Tatsachen ermitteln.

Man kann aus den Zahlen, nach denen Kurve Nr. 2 gezeichnet ist, noch eine andere Kurve gewinnen. Wenn am ersten Tag bei 0,55 % NaCl 18 % Blutkörperchen verschwunden sind und bei 0,53 % NaCl nur 42 % Erythrocyten übriggeblieben sind, dann sind also 24 % Erythrocyten im Blut, die gerade bei 0,53 % NaCl aufgelöst werden. So kann man für jede Konzentration aufzeichnen, wieviel Erythrocyten gerade bei ihr platzen. Auch diese Zahlen sind in einer Kurve wiedergegeben (s. Fig. 3).

Diese Kurve kann man auch wieder nach jeder Blutentziehung zeichnen; man sieht dann typische Differenzen (s. Fig. 6). Immer gibt es eine oder zwei Konzentrationen, wobei auffallend viel Blutkörperchen platzen. Am ersten Tag werden

Tabelle C.

NaCl-Konzentration %	Prozente Erythrocyten, die bei einer jeden Konzentration gerade verschwinden, während sie in einer 0,02 %igen konzentrierten Lösung noch intakt blieben		
	1. Venesektion	2. Venesektion	3. Venesektion
0,57	12	12	—
0,55	6	0	—
0,53	24	4	—
0,51	25	18	10
0,49	13	29	15
0,47	18	9	15
0,45	—	9	27,5
0,43	—	7	22,5
0,41	—	9	10



1. Venesektion: ——— 2. Venesektion: ------ 3. Venesektion: —·—·—

Fig. 3. Graphische Darstellung von Tabelle C.

die meisten Blutkörperchen bei 0,53 % und 0,51 % hämolysiert, am zweiten Tag bei 0,49 % NaCl und am dritten Tag bei 0,45 % NaCl. Diese Maxima verschieben sich also auch nach jeder Blutentziehung, und zwar immer in der Richtung der niedrigen Konzentrationen. So ist jede Venesektion ein Reiz, wodurch Erythrocyten mit hoher Resistenz entstehen.

Die Differenzen der Kurven, in Zahlen ausgedrückt, lehren, ob die Blutkörperchen, die bei einer bestimmten Resistenz aufgelöst werden, zu- oder abgenommen haben.

	2. Venesektion	3. Venesektion
Zellen, die gerade bei 0,57 % platzen	gleich	verschwunden
" " " " 0,55 " "	abgenommen	"
" " " " 0,53 " "	"	"
" " " " 0,51 " "	"	abgenommen
" " " " 0,49 " "	zugenommen	"
" " " " 0,47 " "	abgenommen	zugenommen
" " " " 0,45 " "	neu entstanden	"
" " " " 0,43 " "	" "	"
" " " " 0,41 " "	" "	"

Jeden Tag verschwinden also die Erythrocyten der geringeren Resistenz, während die resistenten sich vermehren oder gar neue Kategorien entstehen. Man könnte a priori sagen, daß immer nach einer Venesektion die Zahl der wenig resistenten verhältnismäßig kleiner werden müßte. Es läßt sich aber leicht berechnen, daß die Zahl mehr abnimmt als die Blutentziehung an sich erklären könnte. Das Gewicht des Kaninchen war 2000 g. Die Blutmenge betrug also ungefähr 200 g. Als 10 g Blut entzogen wurden, ging 5 % der Gesamtmenge verloren. Wenn keine Regeneration auftrat, würden

die Mengenverhältnisse der verschiedenen resistenten Erythrocyten untereinander sich nicht ändern, weil von jeder Resistenzkategorie 5 % verloren gingen. Aber selbst wenn die verlorene Menge Blut ganz wieder ersetzt war durch junge, d. h. hochresistente Blutkörperchen, würde die relative Verringerung der weniger resistenten nur klein sein (± 5 %). Wie sich aus der Kurvenfigur 3 ergibt, nehmen die wenigst resistenten nach jeder Blutentziehung **stark** ab.

Es muß irgendeine Ursache vorhanden sein, warum die wenig resistenten Blutkörperchen so stark nach einer Venesektion abnehmen, viel stärker als dem Blutverlust entspricht. Unter Einfluß eines Aderlasses werden wenig resistente, d. h. alte Blutkörperchen destruiert. Wo diese unverhältnismäßig große Abnahme der alten Blutkörperchen genau mit der Zunahme der jungen parallel geht, ist die wahrscheinlichste Annahme, daß **die jungen Blutkörperchen aufgebaut werden aus den alten.** Außer den Blutkörperchen, die den Körper durch den Aderlaß verlassen, verschwinden dann noch viele alte Blutzellen aus dem Blut, um das Material zu liefern für den Anbau neuer Blutzellen.

Aus diesem Gesichtspunkt ist noch eine andere Tatsache zu erklären. Aus Kurve 3 ersieht man, daß nach jeder Venesektion die Maxima sich verschieben. Die jungen Blutkörperchen, die nach der ersten Venesektion entstehen, sind also doch weniger resistent als die jungen Blutkörperchen, die nach der zweiten Venesektion entstehen usw. Bei anderen Tieren, wo fünf Aderlässe gemacht waren, zeigte sich, daß die obige Erscheinung durchgängig bestehen bleibt, so daß nach der 5. Venesektion die jungen Blutkörperchen resistenter sind als nach der 4. usw. Das läßt sich verstehen, wenn man annimmt, daß die jungen Blutkörperchen aus den alten entstehen. Die alten Blutkörperchen, die z. B. nach der 4. Blutentziehung benützt werden, um die jungen aufzubauen, sind schon viel resistenter als die alten, die als Baustoffe für die jungen Blutkörperchen dienten, die den 1. Blutverlust ersetzen mußten. Und so werden nach jeder Blutentziehung die jungen Erythrocyten resistenter als die jungen Erythrocyten, die den vorigen Blutverlust ersetzen mußten, weil das Baumaterial auch resistenter wird.

Eine Blutentziehung veranlaßt nicht allein den Ersatz der verlorenen Blutkörperchen, sondern jede Venesektion ist ein starker Reiz für das hämatopoetische System, wodurch viel mehr neue Blutkörperchen entstehen als nötig sind, um den Blutverlust zu ersetzen. Nach 3 Venesektionen von 10 ccm sind bei einem Körpergewicht von 2000 g ungefähr 15% des Blutes verloren gegangen. In Kurve 4 sieht man, daß, während am ersten Tag bei 0,47% NaCl die Hämolyse komplett ist, am dritten Tag bei 0,47% NaCl nur 35% der Erythrocyten aufgelöst sind. Die 65% Zellen, die Konzentrationen unter 0,47% NaCl widerstehen können, sind also neugebildet. Wenn 15% der Zellen verloren gehen, ersetzen 65% neue Zellen den Verlust. Auch hier gilt also die Weigertsche Regel der Pathologie: die Reparation ist viel größer als der Verlust.

Die Zahl der Erythrocyten pro Kubikzentimeter kann aber nicht schnell zunehmen, weil ungefähr für jeden neuen Erythrocyten ein alter verbraucht wird. Doch wird auch dieser Ersatz von alten Blutkörperchen durch junge Zellen wohl einen Nutzen haben, weil die jungen Erythrocyten andere Eigenschaften haben als die alten, wie sich aus ihrer höheren Resistenz und starker Sauerstoffzehrung ergibt.

Zusammenfassung.

Durch die colorimetrische Bestimmung der Hämolyse, von hypotonischen Salzlösungen veranlaßt (Arrhenius), kann man die Regeneration, die nach Blutverlusten auftritt, besser studieren als es bisher gelang.

Mit Hilfe dieser Methoden hat man folgende Resultate erhalten:

1. Auch die jungen Erythrocyten, die nach Aderlässen entstehen, sind viel resistenter gegen hypotonische Salzlösungen als alte Blutzellen.

2. Man muß annehmen, daß junge rote Blutkörperchen aus alten aufgebaut werden.

3. Auch bei der Blutregeneration gilt das Weigertsche Gesetz. Nach einer Blutentziehung entstehen viel mehr neue Zellen als zugrunde gegangen sind.

Einfluß des Auswaschens auf die Resistenz der roten Blutkörperchen.

Von

J. Snapper.

(Aus dem Physiologischen Institut in Groningen.)

(Eingegangen am 24. Juni 1912.)

Mit 6 Figuren im Text.

Für die in der vorhergehenden Mitteilung angeführten Untersuchungen war es nötig zu entscheiden, ob das Serum tatsächlich einen Einfluß auf die Hämolyse hat oder nicht. Auch hierüber findet man in der Literatur recht verschiedene Ansichten. Fast immer wurden die Erythrocyten mit 0,9% NaCl ausgewaschen und dann ihre Minimum- und Maximumresistenz bestimmt im Vergleich mit nicht ausgewaschenen Blutkörperchen. In den meisten Fällen[1]) wurde eine geringere Resistenz des ausgewaschenen Blutes festgestellt, während andere das nicht bestätigen konnten[2]). Die Erklärung für diese Herabsetzung der Resistenz wird gewöhnlich gesucht in der Annahme von hypothetischen Stoffen im Serum, die die Hämolyse hemmen könnten. Durch das Auswaschen des Blutes wurden diese Stoffe entfernt und deshalb konnte die Hämolyse leichter eintreten, als wenn das Blut nicht ausgewaschen ist.

Die nähere Analyse der Resistenzbreite hat auch diese Frage beantwortet.

Methodik.

Defibriniertes Blut aus der Ohrvene wurde in zwei Portionen geteilt. Beide Portionen wurden zentrifugiert. Von dem Teile, den man auswaschen wollte, wurde das Serum möglichst

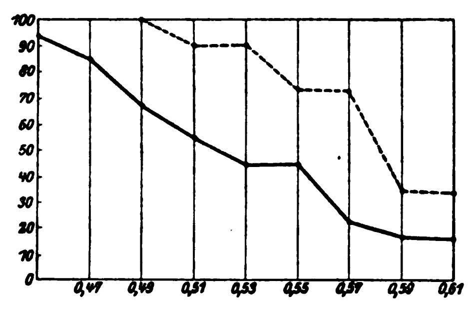
[1]) Groß, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 62.

[2]) Pel, Dissert. Amsterdam 1911.

genau abpipettiert, ungefähr das zehnfache an 0,9 °/₀ NaCl zugesetzt und tüchtig umgeschüttelt. Dies geschah viermal. Um eine Schädigung durch das wiederholte Zentrifugieren auszuschließen, wurde jedesmal das nicht ausgewaschene Kontrollblut auch zentrifugiert.

Blutkörperchen mit 0,9 °/₀ NaCl ausgewaschen haben eine geringere Resistenz als nicht ausgewaschene.

Auch unter diesen Kautelen ergibt sich, ohne eine einzige Ausnahme, daß ein Unterschied in der Resistenz der normalen und ausgewaschenen Erythrocyten besteht, wie die Herstellung der Hämoglobinkurven zeigt.



Nicht ausgewaschenes Blut. ------ Blut mit 0,9 °/₀ NaCl ausgewaschen.

Fig. 1. Unterschied von normalem und ausgewaschenem Blut.

Immer ist bei den ausgewaschenen Blutkörperchen die Kurve nach den höheren Konzentrationen gerückt, d. h. bei einer bestimmten Konzentration sind mehr ausgewaschene als normale Blutkörperchen aufgelöst. Bei 0,51 °/₀ NaCl z. B. platzen 50 °/₀ der normalen und 90 °/₀ der ausgewaschenen Blutkörperchen. In der Tat bestehen also Unterschiede, und deshalb sind die Resultate der Untersucher, die mit nicht ausgewaschenem, und die, die mit ausgewaschenem Blute gearbeitet haben, nicht ohne weiteres miteinander vergleichbar.

Die Bedeutung dieser Tatsache wird noch größer, wenn man bedenkt, daß man jetzt die größere Resistenz der Blutkörperchen des anämischen Tieres vielleicht durch die relativ größere Menge Serum des anämischen Blutes erklären könnte.

Denn, wie gesagt, diese Wirkung des Auswaschens könnte auf der Entfernung einer hämolysehemmenden Substanz des

Serums beruhen. Und dann wäre die eben genannte Erklärung für die höhere Resistenz der jungen Blutkörperchen richtig. Zweitens wäre aber eine Störung des osmotischen Gleichgewichtes der Erythrocyten durch die reine NaCl-Lösung möglich. Die Metall-Ionen, die im Blutkörperchen vorhanden sind, müssen ja ausgewechselt werden gegen Na-Ionen, wenn die Zellen in einer reinen 0,9°/₀igen NaCl-Lösung suspendiert werden.

Um diese zweite Annahme näher zu untersuchen, genügt es nicht, mit einer Ringerlösung statt mit 0,9°/₀ NaCl auszuwaschen. Denn das Gleichgewicht der Metall-Ionen im Serum und in der Ringerlösung muß verschieden sein, weil die Konzentration der Metalle in den Ringerlösungen übereinstimmt mit der absoluten Konzentration, die man für die Metalle im Serum gefunden hat. Die Ionisation der Metalle im Serum und in der Ringerlösung muß aber verschieden sein, weil im Serum ein Teil der Metalle an Eiweiß gebunden ist. Überdies steht es noch nicht fest, ob die Analysen des Serums, worauf die Zusammensetzung der Ringerlösung fußt, gut sind. Speziell für die Calciumbestimmungen besteht jetzt ein gerechter Zweifel[1])

Auch die Ringerlösung ist also nicht isotonisch-isosmotisch mit dem Serum und ist also in dieser Hinsicht nicht physiologisch.

Blutkörperchen mit 4°/₀ Glucoselösung ausgewaschen haben dieselbe Resistenz wie nicht ausgewaschene.

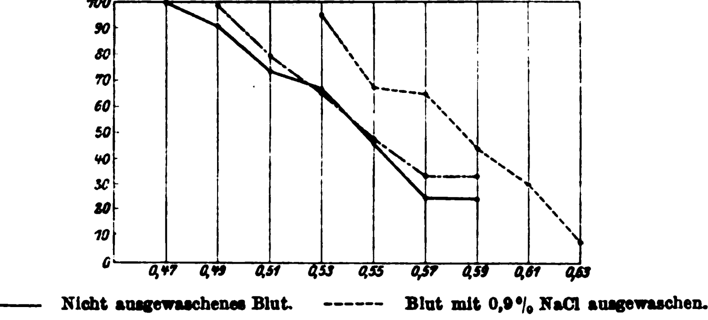
Wenn man das Serum durch einen Nichtelektrolyten ersetzt, dann kann das osmotische Gleichgewicht der Erythrocyten sich nicht ändern, weil keine Ionen da sind, gegen die die Metall-Ionen der Blutzellen ausgewechselt werden können. Durch Auswaschen mit 4°/₀iger Glucoselösung kann man also die osmotischen Verschiebungen ausschließen, während man doch das Serum entfernt. Verteilt man daher das defibrinierte Blut in 3 Portionen, dann kann man einen Teil mit 0,9°/₀ NaCl, einen anderen Teil mit 4°/₀ Glucose auswaschen, immer unter den obengenannten Kautelen für das nicht ausgewaschene Blut.

Die Kurven der Resistenzbreite des normalen und „Glucose-

---

[1]) Hamburger, Zeitschr. f. physikal. Chem. 69.

blutes“ decken sich, während die Resistenz der „NaCl-Erythrocythen“ wieder kleiner geworden ist (Fig. 2).



—— Nicht ausgewaschenes Blut. ------ Blut mit 0,9 % NaCl ausgewaschen.

—·—· Blut mit 4 % Glucose ausgewaschen.

Fig. 2. Blut mit 0,9 % NaCl ausgewaschen hat eine geringere Resistenz, Blut mit 4 % Glucose ausgewaschen dagegen nicht.

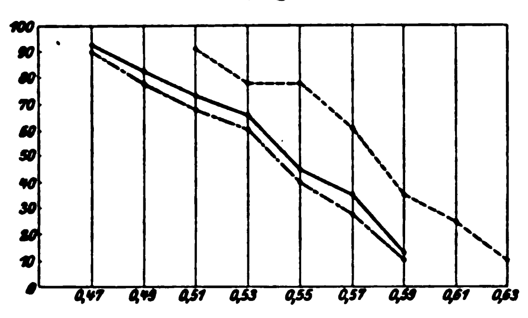
Die Entfernung des Serums an sich ändert deshalb die Resistenz der Blutkörperchen nicht: Es gibt keine Substanzen im Serum, die die Hämolyse hemmen. Nur wird die Resistenz geändert, wenn man das Serum durch eine Lösung ersetzt, die das osmotische Gleichgewicht der Blutkörperchen stört.

Setzt man zu der 0,9%igen NaCl-Lösung 0,1% $CaCl_2$, dann ändert sich die Resistenz der Blutkörperchen nach dem Auswaschen nicht.

Man kann jetzt versuchen, den Schaden, der von der 0,9%igen NaCl-Lösung herstammt, auszugleichen. Wenn man die verschiedenen Metalle miteinander vergleicht, dann muß man, um die Schädigung zu erklären, am ersten das Austreten des Calciums aus den Blutzellen in Betracht ziehen. Speziell für die weißen Blutkörperchen hat sich dieses Metall als ein sehr bedeutendes Stimulans gezeigt[1]). Für die Erythrocyten ist die Calciumwirkung nur für die Saponinhämolyse und für einige hämolytische Sera nachgewiesen. Wegen der Resultate, die man bei den Leukocyten erhalten hatte, lag der Versuch nahe, den Austritt der Ca-Ionen aus den Blutkörperchen während des Auswaschens mit NaCl zu verhindern.

[1]) Hamburger und Hekma, diese Zeitschr. 8 und 7.

Die verschiedenen Analysen des Serums haben immer einen Calciumgehalt von 0,01 % ergeben. Seit den Untersuchungen von Hamburger (l. c.) ist es wahrscheinlich, daß diese Zahl zu niedrig ist. Jedenfalls zeigt es sich, daß Auswaschen der Erythrocyten mit einer Lösung von 0,9 % NaCl und 0,01 % $CaCl_2$ dieselbe Wirkung hat wie eine reine 0,9 %ige NaCl-Lösung. Der schädigende Effekt der reinen Kochsalzlösung wird aber beseitigt, wenn man mit 0,9 % NaCl und 0,1 % $CaCl_2$ arbeitet. Dann ändert sich die Resistenz nach dem Auswaschen nicht (Fig. 3).



——— Nicht ausgewaschenes Blut. ----- Blut mit 0,9 % NaCl ausgewaschen.

—·—·— Blut mit 0,9 % NaCl + 0,1 % $CaCl_2$ ausgewaschen.

Fig. 3. Wenn man statt mit 0,9 % NaCl mit 0,9 % NaCl + 0,1 % $CaCl_2$ auswäscht, findet man keine Resistenzunterschiede.

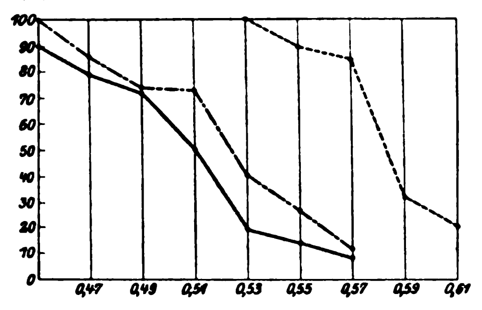
Nähere quantitative Untersuchungen müßten zeigen, ob der Calciumzusatz hier nur den Austritt von Ca-Ionen aus den Erythrocyten verhindert oder ob von dem Übermaß an Ca in der Lösung Ionen in den Blutkörperchen eintreten und so die Resistenz steigern.

Für Hämolyse-Versuche darf das Blut nicht in einer Lösung von 0,9 % NaCl + 0,4 % Natr. citr. aufgefangen werden.

In den letzten Jahren hat man, um Leukocyten zu erhalten, das Blut in einer Lösung von citronensaurem Natrium aufgefangen, um das Defibrinieren zu vermeiden. Die Lösung, die hierzu im hiesigen Laboratorium immer benutzt wird, ist 0,9 % NaCl + 0,4 % Natr. citricum. Das Blut wird mit gleichen Teilen dieser Lösung vermischt. Es zeigt sich, daß die Leukocyten durch diese Lösung keinen nachteiligen Einfluß erkennen

lassen, d. h. die Phagocytose wird nicht geschädigt, wenn man nachher die Leukocyten wieder mit 0,9% NaCl auswäscht.

Es wäre vorteilhaft, wenn man ein derartiges Verfahren auch für Hämolyseuntersuchungen gebrauchen könnte, denn nach dem Defibrinieren durch Schlagen mit Stäbchen ist das überstehende Serum immer ein wenig rot gefärbt, d. h. durch das Schlagen sind Blutkörperchen zugrunde gegangen. Wo überdies die übriggebliebenen geschädigt sein könnten, wäre es der Mühe wert, das Auffangen in der oben genannten Citratlösung zu versuchen. Aber weil auch diese Lösung das osmotische Gleichgewicht stören muß, bekommt man auch auf diese Weise abnorme Erythrocyten, und zwar wird die Resistenz herabgesetzt (Fig. 4)[1].



——— Nicht ausgewaschenes Blut.

- - - - Blut in 0,9% NaCl + 0,4% Natr. citr. aufgefangen.

— — — Blut in 0,9% NaCl + 0,4% Natr. citr. aufgefangen und nachher mit 0,9% NaCl + 0,1% $CaCl_2$ ausgewaschen.

Fig. 4. Wenn man das Blut in einer Zitratlösung auffängt, wird die Resistenz kleiner. Diese Schädigung ist durch Auswaschung mit 0,9% NaCl + 0,1% $CaCl_2$ zu beseitigen.

Man kann auch hier die normale Resistenz zurückerhalten durch Abheben der Citratlösung und wiederholtes Auswaschen mit 0,9% NaCl + 0,1% $CaCl_2$. Die Schädigung der Citratlösung ist dann vollkommen beseitigt (s. Fig. 4).

Es zeigt sich hier also eine Differenz zwischen den Untersuchungsmethoden für rote und weiße Blutkörperchen. Die Hämolyse gibt für die roten Blutkörperchen feinere Resultate als die Phagocytose für die weißen. Denn eine geringe os-

[1]) Nachheriges Abheben der Zitratlösung und Auswaschen mit 0,9% NaCl ändert die Schädigung nicht.

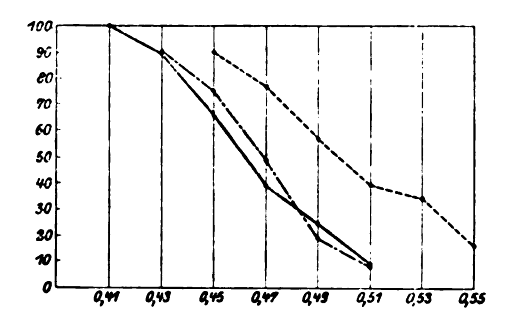
motische Störung führt eine Änderung der Hämolyse der roten, aber keine Änderung der Phagocytose der weißen Blutkörperchen herbei.

Die Resistenz der jungen Blutkörperchen, bei der Regeneration entstanden, wird auch durch Auswaschung mit $0{,}9\,^0/_0$ NaCl verringert, aber nicht durch Auswaschung mit $4\,^0/_0$ Glucose geändert.

Auch bei dem anämischen Tiere ist der Einfluß des Serums auf die Hämolyse derselbe wie bei dem normalen.

Wenn man das anämische Blut mit $4\,^0/_0$ Glucose auswäscht, bleibt die Resistenz der ausgewaschenen Erythrocyten dieselbe wie die der normal im Serum suspendierten. Die erhöhte Resistenz der Erythrocyten des anämischen Blutes ist also nicht durch den relativ größeren Gehalt an Serum verursacht. Sie ist eine Eigenschaft der jungen Erythrocyten (s. Fig. 5).

Den Einfluß des Auswaschens mit $0{,}9\,^0/_0$ NaCl sieht man aber bei dem anämischen Blute gerade so gut wie bei dem normalen. Auch wenn viele junge Erythrocyten im Blute kreisen, wird die Resistenz durch Auswaschen mit $0{,}9\,^0/_0$ NaCl (s. Fig. 5) verringert.



3. Blutentziehung. Sehr viel junge Blutkörperchen im Blut.

——— **Nicht ausgewaschenes Blut.** - - - - - **Blut ausgewaschen mit $0{,}9\,^0/_0$ NaCl**

—·—·— **Blut ausgewaschen mit $4\,^0/_0$ Glucose.**

Fig. 5. Auch bei dem anämischen Tier wird die Resistenz des Blutes herabgesetzt durch Auswaschung mit $0{,}9\,^0/_0$ NaCl. Auswaschung mit $4\,^0/_0$ Glucose ändert die Resistenz nicht.

Nach dem Auswaschen bleibt die Resistenz des Blutes des anämischen Tieres größer als die Resistenz des ausgewaschenen, normalen Blutes.

Man könnte aber denken, daß die feinen Differenzen, die die jungen Erythrocyten resistenter machen als die älteren, alle durch Auswaschen mit 0,9% NaCl beseitigt würden. Das ausgewaschene anämische Blut zeigte dann keine Unterschiede in der Resistenz gegenüber dem ausgewaschenen normalen Blute. Auch bei dem ausgewaschenen Blute sieht man aber, wie die Kurve sich immer nach den niedrigeren Konzentrationen bewegt, wie also die Resistenz auch nach dem Auswaschen mit 0,9% NaCl gesteigert bleibt (s. Fig. 6). Dann beruht also die größere Resistenz der jungen Blutkörperchen nicht auf einem größeren Gehalt an Metall-Ionen, denn diese müßten nach dem Auswaschen mit reiner NaCl-Lösung austreten, und so würde dann die größere Resistenz der jungen Blutkörperchen durch Auswaschen verschwinden.

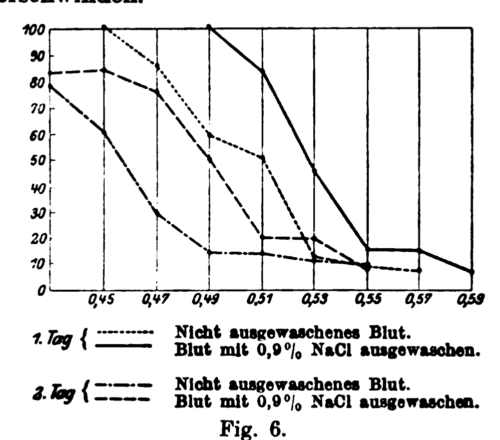


Fig. 6.

Das ausgewaschene Blut eines normalen Tieres ist weniger resistent als das ausgewaschene Blut desselben Tieres, nachdem es anämisch gemacht ist.

1. Blutkörperchen, mit 4% Glucoselösung ausgewaschen, haben dieselbe Resistenz gegen hypotonische NaCl-Lösungen wie nichtausgewaschene.

2. Blutkörperchen, mit 0,9%iger NaCl-Lösung ausgewaschen, haben eine geringere Resistenz gegen hypotonische NaCl-Lösungen wie nichtausgewaschene.

3. Diese verringerte Resistenz beruht also nicht auf der

Entfernung hypothetischer, hämolysehemmender Stoffe des Serums, sondern auf Störung des osmotischen Gleichgewichtes der Erythrocyten.

4. Diese osmotische Schädigung ist ganz zu beseitigen, wenn man zu der 0,9 %igen NaCl-Lösung 0,1 % $CaCl_2$ hinzusetzt.

5. Für Resistenzbestimmungen darf das Blut nicht in 0,9 % NaCl + 0,4 % Natriumzitrat aufgefangen werden, weil auch diese Lösung das Gleichgewicht der Erythrocyten schädigt.

6. Dieser Schaden verschwindet, wenn man nachher die Blutkörperchen wieder mit 0,9 % NaCl + 0,1 % $CaCl_2$ auswäscht.

7. Die erhöhte Resistenz der jungen Blutkörperchen beim anämischen Tiere beruht nicht auf dem relativ größeren Serumgehalt des anämischen Blutes. Es ist eine Eigenschaft der Blutkörperchen selbst, die nicht durch Auswaschen mit 0,9 %iger NaCl-Lösung verschwindet.

Über den Einfluß des Fischleims auf die Zuckerbestimmung durch die Fehlingsche Lösung.

Von

Alessandro Bernardi.

(Aus dem Institut für pharmazeutische und toxikologische Chemie der Universität Bologna.)

(Eingegangen am 25. Juni 1912.)

In Fortsetzung des Studiums über den Einfluß einiger mit Glucose gemischter Kolloide, auf die gewichtsanalytische quantitative Bestimmung der Glucose mit Fehlingscher Lösung, habe ich den Fischleim erprobt.

Die von mir ausgeführten quantitativen Bestimmungen gestatten mir zu behaupten, daß der Fischleim gleich dem Pepton[1]) die Reduktionskraft der Glucose gegenüber der Fehlingschen Lösung beträchtlich erhöht, da das erhaltene Cu_2O in Gegenwart des Fischleims scheinbar ein erhebliches Plus zeigt.

Die angewendete Traubenzuckerlösung war ungefähr 1%ig, ebenso die Fischleimlösung. Von beiden wurden 25 ccm genommen und mit 80 ccm Fehlingscher Lösung 3 Minuten im Sieden erhalten, das ausgeschiedene Kupferoxydul auf einem getrockneten, gewogenen Filter gesammelt, ausgewaschen und bei 115° getrocknet. Natürlich wurde zum Versuch und Gegenversuch dieselbe Traubenzuckerlösung genommen, für jeden weiteren Versuch jedoch frisch hergestellt.

Auch in diesem Falle wie in dem des Peptons[2]) wird der Gewichtsüberschuß des Cu_2O nicht vom Kupferoxydul gegeben, sondern von einer wahrscheinlich komplexen und vermutlich mechanisch vom Kupferoxydul niedergeschlagenen Substanz. In der Tat lassen die aus den Analysen erhaltenen Resultate, in

[1]) A. Bernardi, diese Zeitschr. **41**, Heft 1 u. 2, S. 160.

[2]) A. Bernardi, l. c.

Tabelle I.
Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung g	Aus der Mischung mit 0,25 g Fischleim g	Aus der Mischung mit 0,31 g Fischleim g
1	0,5554	0,5938 0,5851 0,5862	—
2	0,4418	0,4770 0,4772	—
3	0,6290	—	0,6690
4	0,5144	—	0,5536 0,5580

denen das in Gegenwart von Fischleim erhaltene Cu_2O aus dem produzierten Kupferrhodanür (Cuprorhodanid) berechnet wurde, darüber keinen Zweifel.

Tabelle II.

Nummer des Versuchs		Cu_2O g	Cu_2O im Mittel g	Cu (CNS) aus Cu_2O g	Dem Cu(CNS) entsprechendes Cu_2O g	Mittel g
5	Glucoselösung	0,5554	—	—	—	—
	Glucose + 0,25 g Fischleim	0,5958 0,5851 0,5862	0,5884	0,9470 0,9528 0,9504	0,5573 0,5607 0,5593	0,5591
6	Glucoselösung	0,6290	—	—	—	—
	Glucose + 0,31 g Fischleim	0,6690	—	1,0762	0,6334	—

Um den so durch den Fischleim erzeugten Fehler zu vermeiden, habe ich verschiedene Methoden[1]) probiert, ihn aus den gleichzeitig Glucose enthaltenden Lösungen auszuscheiden. Ein gutes Resultat erhält man, indem man den Leim mittels Quecksilberchlorid in Salzsäure fällt.

Wird der Flüssigkeit ein Fünftel ihres Volumens 10%iger Salzsäure und eine gleiche Menge von 6%igem $HgCl_2$ beigefügt, so wird der Fischleim rasch in weißen Flocken gefällt; jedoch bedarf es mehrstündiger Ruhe, bis die filtrierte Flüssigkeit vollkommen klar wird. Hierauf fällt man das Quecksilber

[1]) Vgl. C. Neuberg u. M. Ishida (diese Zeitschr. 37, 142, 1911), die Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure empfehlen.

mittels Schwefelwasserstoffs aus, und der überschüssige H_2S wird durch Kochen beseitigt.

Tabelle III.

Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung g	Aus ders. Zuckerlösung + 0,25 g Fischleim g	Aus ders. Mischung nach der Ausscheidung g
7	0,4418	{ 0,4770 0,4772	0,4376

Das Schwefelwasserstoffgas kann auch mittels Bleiessig entfernt werden. Jedoch sind die Resultate weniger günstig als die der vorausgehenden Versuche, wie sich aus folgendem ersehen läßt.

Tabelle IV.

Erhaltenes Kupferoxydul.

Nummer des Versuchs	Aus der Zuckerlösung g	Aus ders. Zuckerlösung + 0,31 g Fischleim g	Aus ders. Mischung nach der Ausscheidung g
8	0,5144	{ 0,5536 0,5580	0,5026 0,5032

Die Ausscheidung des Fischleims kann auch durch Ausfällung mittels Ammoniummolybdat und Essigsäure erfolgen. Es muß jedoch beachtet werden, daß man die Reduktionskraft der Glucose nicht nach der Ausscheidung des Fischleims bestimmen kann, indem man ohne weiteres das aus der Fehlingschen Lösung ergebene Cu_2O abwägt.

Maschke[1]) hatte schon beobachtet, daß eine Molybdänsäuresalzlösung in verdünnter Salzsäure sich bei Hinzufügung von Glucose blau färbt. Das gleiche geschieht, wenn die Salzsäure durch Essigsäure ersetzt wird. Das Molybdänblau bildet sich auch hier. In der Tat nehmen die Lösungen nach Fällung des Fischleims beim Stehen eine stetig an blauer Intensität zunehmende Färbung an; bei direktem Licht erhält man einen

[1]) Bull. de la Soc. Chim. 21, 493, 1874.

dunkelblauen, aus glasigen, scheinbar krystallinischen Bruchstücken bestehenden Niederschlag. Diese Eigenschaften sind die von Clason[1]) hinsichtlich des Molybdänblau beschriebenen.

Die analytischen Ergebnisse, die man erhält, indem man das erhaltene Cu_2O direkt abwägt, sind natürlich höher. Verwandelt man das erhaltene Cu_2O in Cu(CNS), so erhält man sehr gute Resultate. Man kann demnach die auf diese Weise erfolgte Ausscheidung des Fischleims aus der Glucose als vollständig betrachten. Es ist sehr zweckmäßig, die Lösung nach Hinzufügung des Ammoniummolybdats im Dunkeln stehen zu lassen und nach der Fischleimfällung das Cu_2O mittels Fehlingscher Lösung rasch zu bestimmen.

Man fügt unter starkem Schütteln zu 25 ccm einer Mischung von Glucose und Fischleimlösung zu gleichen Teilen 5 ccm 10%iger Essigsäure und 10 ccm 10%iger Molybdänlösung. Der Fischleim scheidet sich als pechförmige Masse aus und nach mehrstündiger Ruhe im Dunkeln filtriert man und bestimmt rasch die Reduktion.

Tabelle V.

Nummer des Versuchs		Cu_2O g	Cu_2O im Mittel g	Cu(CNS) aus Cu_2O g	Dem Cu(CNS) entsprechendes Cu_2O g	Mittel g
9	Glucoselösung	0,6004 0,5956	0,5980	—	—	—
	Glucose + Fischleim	—	—	1,0242 1,0040	0,6008 0,5908	0,5958

Ich glaube noch bemerken zu müssen, daß das Ammoniummolybdat sehr gut auch zur Abscheidung des Peptons aus der Glucose- und Peptonmischung dienen kann. Es kann die Phosphorwolframsäure ersetzen, über deren Wirkung ich in einer früheren Arbeit berichtet habe[2]): wenn man, wie für die Ausscheidung des Fischleims beschrieben wurde, vorgeht, so fällt das Pepton als käsige Masse aus. Nach 1 stündiger Ruhe im Dunkeln filtriert man und nimmt rasch die Reduktion vor.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 159.

[2]) A. Bernardi, loc. cit.

Tabelle VI.

Nummer des Versuchs	Cu_2O aus der Glucoselösung	Cu_2O im Mittel	Aus ders. Zuckerlösung + 0,5 g Pepton nach der Ausscheidung		Cu_2O im Mittel	Aus ders. Zuckerlösung + 1 g Pepton nach der Ausscheidung		Cu_2O im Mittel
			gefundenes Cu(CNS)	dem Cu(CNS) entsprechendes Cu_2O		gefundenes Cu(CNS)	dem Cu(CNS) entsprechendes Cu_2O	
	g	g	g	g	g	g	g	g
10	0,4186 0,4148	0,4167	0,7000 0,7064	0,4118 0,4152	0,4135	0,6964 0,7020	0,4098 0,4130	0,4114

Aus den Ergebnissen meiner Versuche kann man also schließen, daß eine genaue Bestimmung der Reduktionskraft der Glucose mittels Fehlingscher Lösung in Gegenwart von Fischleim nicht möglich ist; daß man eine genaue Bestimmung vornehmen kann, indem man das erhaltene Cu_2O in Cu(CNS) verwandelt; daß man ferner Fischleim aus der Glucose- und Fischleimmischung zuvor mittels Quecksilberchlorid oder Ammoniummolybdatlösung ausscheiden kann; endlich, daß molybdänsaures Ammonium außer zur Abscheidung des Fischleims auch zu der Abscheidung von Pepton dienen kann, indem es die Phosphorwolframsäure ersetzt.

Beiträge zur Kenntnis der sogenannten terpentinphosphorigen Säure.

Von

Ernst Sieburg.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie der Universität Rostock.)

(Eingegangen am 27. Juni 1912.)

„Man macht mit dem Phosphor eine Menge ganz amüsanter Experimente. Er ist eine derjenigen Substanzen, mit deren Hilfe die Magiker Operationen ausführen können, die den nicht Eingeweihten in Erstaunen setzen. Der Gebrauch des Phosphors ist sehr beschränkt; in den chemischen Laboratorien dient er zur Analyse der Luft infolge seiner großen Verwandtschaft zum Sauerstoff."

Mit diesem Zitat aus Maques' Dictionaire der Chemie vom Jahre 1785 leiten Ph. Munk und E. Leyden[1]) ihre Monographie über die akute Phosphorvergiftung ein. Die beiden Autoren wenden sich sehr entschieden gegen eine Einschränkung der Fabrikation des Phosphors aus Rücksicht für mögliche Vergiftungen, „da der Phosphor für die allgemeine Kultur ein absolut notwendiges Mittel geworden ist".

Nun, auf diesem Standpunkte stehen wir heute kaum mehr. Das deutsche Reichsgesetz vom 10. V. 1903 setzt den Phosphor — gemeint ist immer der gelbe Phosphor — zum großen Teil außer Kurs, indem es seine Verwendung zur Herstellung von Zündhölzern verbietet. Seiner Verbannung aus dem Arzneischatz redet kein geringerer als Hans Horst Meyer[2]) das Wort, indem er ihn durch den sicherer dosierbaren Arsenik ersetzt wissen will.

Um so größeren Raum beansprucht das Kapitel „Phosphor" in

---

[1]) Ph. Munk und E. Leyden, Die akute Phosphorvergiftung, Berlin 1865.

[2]) H. H. Meyer und R. Gottlieb, Die experimentelle Pharmakologie, Berlin und Wien 1910.

den toxikologischen Werken. Er ist vorwiegend ein Weibergift[1]) und zwar ein ebenso gefährliches als unverläßliches und gleichwohl immer wieder angewendetes Fruchtabtreibungsmittel. In einigen Ländern, Skandinavien, Rußland und vor allem Österreich (Prag), scheint es zu diesem Zwecke geradezu Modemittel zu sein[2]).

Es ist daher recht verständlich, wenn viel Zeit und Mühe darauf verwandt worden ist, ein zuverläßliches Antidot herauszufinden. Daß die Herausbeförderung des Giftes aus dem Organismus durch schleunige Entleerung des Magens und des Darmkanals, wie bei jeder Vergiftung anzustreben ist, weiß jeder. Leider setzen sich die Phosphorstückchen (z. B. von Zündholzköpfchen) in der Schleimhaut des Magendarmkanals oft so fest, daß die sorgfältigste Entleerung des Magens und Darms sie nicht zu entfernen vermag. Weiter wird dies Verfahren oft erfolglos, weil schon vor dem Zuziehen des Arztes Resorption tödlicher Mengen eingetreten ist. Wir müssen daher doch oft noch nach einem wirklichen Antidot greifen. Physiologisch-pharmakologische Gegenmittel, d. h. Mittel, die die Wirkung des Giftes in jeder Beziehung paralysieren, wie dies z. B. bei Atropin-Muscarin der Fall ist, sind bei der Mannigfaltigkeit der Wirkungen unseres Giftes kaum denkbar. Es bleiben uns also nur noch diejenigen Gegenmittel, die den Phosphor auf chemischem Wege in eine ungiftige bzw. weniger giftige Verbindung umwandeln. Ein solches ist das in dieser Beziehung von W. Straub[3]) näher studierte und schon von Munk und Leyden empfohlene Kupfersulfat, das wenn es seine Schuldigkeit als Emeticum getan hat, den in den tieferen Verdauungswegen noch befindlichen Phosphor mit einer unlöslichen Schicht von Kupferphosphor umgibt. — Da ferner sämtliche Oxydationsprodukte des Phosphors, von den niedrigsten bis zu den höchsten, ungiftig sind[4]), hat es Sinn, den im Organismus befindlichen freien Phosphor in solche überzuführen. Die gebräuchlichsten hierzu empfohlenen und allgemein anerkannten Mittel sind das Wasserstoffsuperoxyd und das Kaliumpermanganat.

Eine Substanz, deren Wirksamkeit bei der akuten Phosphorvergiftung sehr umstritten wird, ist das Terpentinöl, frisch destilliertes und altes, ozonisiertes.

Nach einigen Autoren entstehen bei Einwirkung von Terpentinöl auf Phosphor Oxydationsprodukte des letzteren, nach anderen eine eigenartige neue, ungiftige Verbindung, wieder nach anderen überhaupt nichts, d. h. der Phosphor löst sich nur nach physikalischen Gesetzen im Terpentinöl. Die Beziehungen des Phosphors zum Terpentinöl und

---

[1]) J. Kratter, Beiträge zur Lehre von den Vergiftungen, Leipzig 1905.

[2]) R. Kobert, Lehrbuch der Intoxikationen, II. Aufl., Stuttgart 1902 bis 1906.

[3]) W. Straub, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 35, 1903.

[4]) R. Kobert, Intoxikationen.

die sich daran anschließenden Folgerungen zu studieren, war meine Aufgabe. Über die von mir dabei gefundenen Tatsachen zu berichten ist der Zweck nachstehender Abhandlung.

Man kann sich ungefähr ein Bild davon machen, wie die Frage steht, wenn man die Lehrbücher der Pharmakologie und Toxikologie, die der Studierende und Praktiker für gewöhnlich in der Hand hat, durchblättert. Einige Stimmen seien herausgegriffen. C. Binz[1]) sagt: „Terpentinöl soll die akute Vergiftung durch gelben Phosphor mit Erfolg bekämpfen .... jedoch macht ein guter Teil der Berichte den Eindruck, daß die Heilung auf zu geringe Dosen des Giftes und ähnliche günstige Umstände zurückzuführen sei." O. Schmiedeberg[2]) meint: „Terpentinöl ist zur Oxydation des Phosphors im Magen bei Vergiftungen mit letzterem empfohlen worden." Nach Cloëtta-Filehne[3]) ist die Darreichung des Ol. Terebinthinae als Antidot von zweifelhaftem Werte. H. H. Meyer[4]) drückt sich genau so aus: das Mittel ist von fraglicher Wirkung. — L. Lewin[5]) registriert auch nur: Terpentinöl ist empfohlen worden. — F. Penzoldt[6]) sagt: Terpentinöl ist innerlich als Antidot bei Phosphorvergiftung zuweilen nützlich, ... es hat sich im Tierversuch und auch in einigen Vergiftungsfällen als chemisches Gegengift bewährt. — H. von Tappeiner[7]) und E. Poulsson[8]) machen den Leser nicht von vorneherein durch ihre kühle Skepsis kopfscheu, sondern stellen unser Mittel den anderen ebenbürtig an die Seite. R. Kobert[9]) empfiehlt es sogar mit einer gewissen Wärme, selbst gegen den bereits resorbierten Phosphor! — Man sieht: in der Mehrzahl wenn nicht gerade Ablehnung, so doch äußerste Zurückhaltung.

Die Geschichte der antidotarischen Verabfolgung von Terpentinöl setzt ein mit einer Beobachtung von P. E. Andant de Dox im Jahre 1868. Er hatte einen 63jährigen Suicidkandidaten zu behandeln, der nach Einnahme von den Zündholzköpfen aus drei Schachteln, ca. 120 bis 140 Stück, aus irgendeinem Grunde Terpentinöl hinterhertrank und

---

[1]) C. Binz, Vorlesungen über Pharmakologie, Berlin 1884.

[2]) O. Schmiedeberg, Grundriß der Pharmakologie, Leipzig 1902.

[3]) A. Cloëttas Lehrbuch der Arzneimittellehre, herausgegeb. von W. Filehne, Freiburg 1892.

[4]) H. H. Meyer und R. Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie.

[5]) L. Lewin, Lehrbuch der Toxikologie, Wien und Leipzig 1885.

[6]) F. Penzoldt, Lehrbuch der klinischen Arzneibehandlung, Jena 1908.

[7]) H. von Tappeiner, Lehrbuch der Arzneimittellehre, Leipzig 1904.

[8]) E. Poulsson, Lehrbuch der Pharmakologie, deutsch von F. Leskien, Leipzig 1910.

[9]) R. Kobert, Intoxikationen. — Lehrbuch der Pharmakotherapie, Stuttgart 1908. — Kompendium der Toxikologie, V. Auflage, Stuttgart 1912.

merkwürdigerweise, ohne das typische klinische Vergiftungsbild zu zeigen, schnell genaß. Diese Tatsache veranlaßte ihn und L. Sorbets, das Mittel in weiter vorgekommenen Fällen zu geben — und zwar mit gleichgutem Erfolge[1]). Das reizte zu Laboratoriumsversuchen, die vorzugsweise von französischen Ärzten vorgenommen wurden, teils mit, teils ohne jeden Erfolg[2]). — H. Köhler[1]) glaubte 1870 eine Frau durch die Terpentinöltherapie gerettet zu haben und unterwarf daraufhin die Frage einer eingehenden experimentellen Prüfung[1]) namentlich auch in chemischer Hinsicht. Seine therapeutischen Resultate lauten dahin, daß Terpentinöl imstande ist, eine bedeutende Menge von Phosphor zu entgiften. Durch Reagensglasversuche stellte er fest, daß sich Phosphor mit dem Terpentinöl zu einer reduzierenden Substanz verbindet, die er terpentinphosphorige Säure nennt. Er zeigte an Tieren, denen er sie verfütterte, ihre relative Ungiftigkeit und will sie sogar unverändert im Harn nachgewiesen haben. Er deduziert dann weiter: diese Verbindung muß es also sein, in die der giftige Phosphor bei Terpentinölmedikation übergeführt wird.

Aber sie entsteht nur, wenn man altes, sog. ozonisiertes Terpentinöl verabreicht und ein zweites Aber: sie entsteht im Organismus auch nur, wenn sich die beiden Komponenten schon im Magen begegnen. Diese präzisen Angaben Koehlers, die den Eindruck erwecken, über die uns hier interessierende Frage ein klares Bild zu geben, wurden bestätigt von Rommelaire[3]). Um dieselbe Zeit experimentierten auch Vetter[4]) und Roessingh[5]), sie fanden aber eine antitoxische Wirkung nur bei einem Terpentinöl ganz bestimmter Herkunft: dem Ol. Terebinth. gallicum, von anderen Sorten weder bei frischem noch altem. O. Busch (l. c.) in Dorpat benutzte unter R. Koberts und G. Dragendorffs Leitung zu weiteren Versuchen sauerstoffhaltiges französisches Terpentinöl und stellte fest, daß durch dasselbe bis zu einem gewissen Grade eine Kompensation der Phosphorwirkung, auch wenn Phosphor subcutan und Terpentinöl per os gegeben wurde, erreicht werden kann — von der eben tödlichen Phosphordosis bis ungefähr 1,0 mg pro Kilogramm Körpergewicht. Die sog. terpentinphosphorige Säure Köhlers extra corpus dargestellt, hält er für ein in der Weise des Phosphors, nur in viel milderer Form wirkendes Gift. — V. Plavec[6]) der im

---

[1]) Zitiert nach: H. Köhler, Über Wert und Bedeutung des Terpentinöls bei der Therapie der akuten Phosphorvergiftung, Halle 1872. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 7, 1870.

[2]) Ausführliches darüber siehe bei O. Busch, Experimentelle Versuche über die Wirksamkeit des Terpentinöls als Antidot bei der akuten Phosphorvergiftung.

[3]) Rommelaire, Jahresber. f. ges. Med. v. Virchow-Hirsch, 454, 1874, Schmidts Jahrb. **154**, 19.

[4]) Vetter, Virchows Archiv **53**, 168, 1871.

[5]) Roessingh, Schmidts Jahrb. **156**, 19, 1872.

[6]) V. Plavec, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **48**, 150, 1902.

Prager Stadtkrankenhaus eine Unmenge von Phosphorvergiftungen zu beobachten Gelegenheit hatte, unterzog die Frage einer neuen Prüfung, wobei er besonderen Wert auf eine eventuelle Entgiftung des resorbierten Phosphors legt. Er selbst drückt sich dahin aus, daß die Darreichung des rektifizierten Terpentinöls keine antidotarische Wirkung auf den resorbierten Phosphor zur Folge hat. Gehen wir auf seine Arbeit etwas näher ein.

Er experimentierte mit 23 Hunden von 6 bis 9 kg und fand als tödliche Dosis Phosphor subcutan injiziert etwa 0,02 bis 0,03 g, also pro Kilogramm Hund etwa 3 mg. Den Phosphor spritzte er in Form einer Öllösung 1:80 subcutan ein, das rektifizierte Terpentinöl gab er per os. Die Hunde, die mehr als die tödliche Dosis Phosphor erhielten (wieviel?!) gingen in annähernd derselben Zeit von 9 bis 36 Stunden zugrunde, obwohl einigen von ihnen mehrmals das Terpentinöl verabreicht wurde. Von Tieren, die annähernd die eben tödliche Phosphordosis erhielten, beobachtete Plavec 7 ohne, 10 mit Terpentinbehandlung. Von den 7 ersten starben 6, von den anderen 10 nur 7. Die am Leben gebliebenen Hunde, also auch die behandelten, boten die Zeichen einer schweren Erkrankung dar.

Daß Plavec, wenn er die Einwirkung von Terpentinöl auf den resorbierten Phosphor studieren wollte, letzteren subcutan applizierte, ist ohne Zweifel richtiger, als wenn er ihn per os eingegeben hätte. Denn aus dem Magen wird ja häufig ein mehr oder weniger großer Teil durch baldiges Erbrechen entfernt. Ob die zurückbleibenden Phosphormengen, die darauf zur Resorption gelangen, überhaupt noch in tötender Menge vorhanden sind, ist fraglich. Gibt man nun Terpentinöl, und bleibt das Tier am Leben, so wäre es in diesem Falle durchaus unstatthaft, von einer lebensrettenden Wirkung des Terpentinöls zu reden.

In den Fällen, wo Plavec antidotarisch Terpentin gab, reichte er es in Gelatinekapseln. Wir wollen annehmen, daß er es in genügender Menge gab. Eine wichtige Angabe aber vermißt man in seiner Arbeit, nämlich wann nach der vergiftenden Injektion er es reichte. Über das Verhältnis von Phosphor zum Blut soll erst später gesprochen werden. Hier nur soviel darüber: Wartet man mit der Beibringung des Gegenmittels länger und läßt man den Phosphor genügend Zeit, sich mit den Lipoiden der Blutkörperchen zu verankern und seine deletären Wirkungen auf andere edle Organe zu entfalten, so ist dann von einer Terpentinöldarreichung kaum mehr viel zu erwarten. Auch vermißt man Versuche, die Köhler allerdings schon angestellt hat, in denen das Terpentinöl ebenfalls subcutan gegeben wurde. Von den 17 Tieren, die die annähernd gerade tödliche Dosis erhielten, wurden 10 mit Terpentinöl behandelt und es blieben 3 am Leben, von den 7 nicht behandelten 1. Somit sind von den ersteren im Verhältnis zu den letzteren doch noch 16% mehr mit dem Leben davon gekommen. Ob dies als Rechenkunststückchen, Zufall oder doch noch zugunsten des Terpentinöls zu deuten ist, mag der Leser selbst entscheiden.

Plavec schließt: „Abgesehen von der minimalen und dadurch schon zweifelhaften Wirkung, die Busch beobachtet hat, können wir auf Grund dieser Versuche mit rektifiziertem und jener von Köhler, Rommelaire u. a. mit oxydiertem Terpentinöl sagen, daß weder das reine noch daß oxydierte Terpentinöl eine solche Wirkung auf den resorbierten Phosphor ausübt, daß sich dieselbe antidotarisch ausnutzen lassen würde."

Auf den noch im Magendarmtraktus befindlichen Phosphor stellen einige Autoren jede therapeutische Wirkung von Terpentinöl irgendwelcher Art überhaupt in Abrede, andere schreiben eine solche nur französischem Öl zu, wieder andere und zwar die meisten behaupten diese nur vom alten, ozonisierten Terpentinöl. So steht die Frage heute [1]).

Diese Verwirrtheit der Ansichten beruht unserer Meinung nach zum guten Teil auf unklaren Vorstellungen über die Einwirkungsweise des Terpentinöls auf elementaren Phosphor.

Schon der Fall Andants, der ja überhaupt die Veranlassung zum Studium unserer Therapie bot, ist in dieser Hinsicht lehrreich. Der betreffende Patient trank nach dem Verschlucken der Streichholzköpfchen Terpentinöl hinterher „damit die Wirkung recht sicher erfolge", wie Busch angibt. Ein bemerkenswertes physiologisch-chemisches Denken von einem 63 jährigen Arbeiter! Aber möglich, daß hier die Vorstellung herrschte, daß das gelöste Gift schneller zur Resorption gelangt, und damit die Wirkung prompter eintritt. Wie vor der Anwendung von Ricinusöl, so warnen einige Pharmakologen mit erhobenem Finger auch vor der antidotarischen Verwendung des frischen Terpentinöls, da solches als Lösungsmittel des Phosphors seine Resorption nur beschleunige. Bamberger [2]) behauptet dies auch von ozonisierten Terpentinöl. Die entgiftende Einwirkungsweise des letzteren auf den Phosphor suchte Personne als Erster [3]) dahin zu erklären, daß intra corpus das sauerstoffhaltige ätherische Öl den Phosphor hindere, sich auf Kosten des Blutsauerstoffes zu oxydieren. Damit war gleichzeitig einer Theorie über die Giftwirkung des Phosphors Ausdruck gegeben, der aber wie auch diesem Erklärungsversuch des Terpentineinflusses von Curier und Vigier [4]) wohl mit Recht widersprochen wurde. Ganz ähnlich stellt sich K. Stich [5]) sowohl die Giftwirkung des Phosphors als auch die denselben entgiftende Terpentinwirkung vor. Diese Theorie ist durch nichts bewiesen. Einige Autoren, unter ihnen Binz (l. c.) glauben, daß der vom ozonisierten ätherischen Öl locker gebundene Sauerstoff den

---

[1]) V. Plavec, Wiener med. Presse, Nr. 11 bis 16, 1904. (Hier erschöpfende Literatur der gesamten Therapie bei Phosphorvergiftung.)

[2]) Bamberger, Wiener med. Presse 1872, 65, 89, 315, 356.

[3]) Personne, Compt. rend. 58, 543, 1869.

[4]) Curier und Vigier, Gaz. med. de Paris, 1869, Nr. 49.

[5]) K. Stich, Wiener klin. Wochenschr. 1901, Nr. 8; Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 32; Pharmakol. Zeitg. 1902, Nr. 51.

Phosphor zu viel weniger bzw. gar nicht giftigen anorganischen Phosphorverbindungen verbrenne, zu phosphoriger Säure oder zu Phosphorsäure. Gestützt wird diese Ansicht durch die Versuche von Thiernesse und Casse[1]), die den phosphorvergifteten Tieren Sauerstoff direkt ins venöse Blut einführten und hiermit günstige Resultate erzielten. Sehr erschüttert wurden jedoch diese Angaben durch die zahlreichen, nach verschiedenen Richtungen hin modifizierten, sehr exakten Versuche von V. Plavec[2]), der Meerschweinchen, bei denen elementarer Phosphor im Blute kreiste, kondensierten Sauerstoff und in anderen Versuchsreihen ozonisierte Luft einatmen ließ. Die Erwartung, daß die mehrfache Erhöhung der Tension des Sauerstoffes im Blute die Oxydation des Phosphors wesentlich beschleunige, und daß dadurch die giftige Wirkung des resorbierten Phosphors größtenteils beseitigt werde, erfüllte sich nicht. Diese Maßnahmen hatten auf den Verlauf der Vergiftung keinen sichtlichen Einfluß. — Es ist unseres Wissens niemals allen Ernstes behauptet worden, doch könnte einer einmal daran denken, daß das Terpentinöl, wie die meisten ätherischen Öle, schwach nierenreizend wirkt, die Diurese steigert und in dieser mehr mechanischen Durchspülung des Organismus seine gewisse antidotarische Wirkung zu suchen ist. Doch wird jeder, der nun einigermaßen Kenntnis von der Lehre der Phosphorvergiftung, wie sie heute herrscht, hat, die Annahme weit von der Hand zu weisen.

Es bleibt uns also noch die Erklärung, daß Phosphor im Kontakt mit dem ätherischen Öl eine oder mehrere ungiftige bzw. wenig giftige Verbindungen eingeht. Eine solche Substanz ist zuerst von H. Köhler, wie schon erwähnt, beschrieben worden als terpentinphosphorige Säure.

Der einzige, der die Existenz dieser sog. terpentinphosphorigen Säure direkt und zwar sehr energisch bestreitet, ist K. Stich. Seine Behauptungen stützen sich aber nicht auf exakte Beobachtungen und Versuche. Die Brauchbarkeit des Terpentinöls als Antidot bei Phosphorvergiftungen gibt er nach den reichlich vorliegenden zuverlässigen klinischen Beobachtungen zu. Über das Zustandekommen der Entgiftung hat er ziemlich dieselben Vorstellungen wie Personne, die längst widerlegt sind. Stich gibt an: Dieselben Krystalle, die bisher als terpentinphosphorige Säure bezeichnet wurden, erhält man auch aus anderen Lösungen des Phosphors, aus Benzol, aus Mandelöl und anderen fetten Ölen, wenn der Phosphor konzentriert gelöst ist. Sie werden erhalten aus der kalten konzentrierten Benzollösung beim Verdunsten und aus den bei 50 bis 60° mit Phosphor gesättigten Öllösung beim Erkalten.

Aus den Öllösungen scheiden sich neben den Krystallen auch durchsichtige Tropfen von Phosphor ab .... Die Annahme, daß in der

[1]) Thiernesse und Casse, Schmidts Jahrb. **168**, 130, 1875.

[2]) V. Plavec, Arch. f. ges. Physiol. **104**, 1904.

früher beschriebenen spermazetartigen Krystallmasse eine Verbindung des Phosphors mit Pinen vorliegt, ist damit zu erklären, daß Phosphor beim Verdunsten aus einer Terpentinöllösung auskrystallisiert, daß durch ihn ozonisiertes Öl die Krystallisation firnißartig bedeckt und schwer von ihnen zu trennen ist .... Aus Benzollösungen scheidet sich Phosphor bei Zusatz einer kleinen Menge Terpentinöl in feinen tannennadelförmigen Krystallskeletten oder häufiger in kleinen Tropfen ab. Seine Behauptungen erhärtet Stich endlich durch folgenden Schlußsatz: „Die Bildung einer terpentinphosphorigen Säure, von der übrigens auch in der neuesten Auflage des Beilstein nichts zu lesen ist, kann nicht erwartet werden."

Die Angaben Stichs betr. die terpentinphosphorige Säure wurden von A. Fischer[1]) widerlegt.

Schon 1826 stellte A. Walcker[2]) eine Einwirkung gewisser ätherischer Öle — unter ihnen rektifiziertes Terpentinöl — auf die Lösung des Phosphors in fetten Ölen fest. Er bemerkte, daß nach Hinzufügen kleiner Mengen dieser Substanzen das Leuchten der Phosphorlösungen augenblicklich verschwindet.

Der Apotheker Jonas[3]) in Eilenburg befaßte sich um 1840 mit der Herstellung von Lacken und Firnissen und erhielt aus Phosphor und Terpentinöl eine feste Substanz, von der er sagt: „Diese höchst interessante Verbindung des Phosphors mit den basischen Ölen, z. B. Terpentinöl und Citronenöl, die krystallinische Verbindungen zu sein scheinen, ist wie mir scheint, den Chemikern noch entgangen. Man erhält sie durch Auflösen des Phosphors in gedachten Ölen in geschlossenen Gefäßen, worauf die ganze Masse des Öles wie eine wallrath-ähnliche Masse erstarrt; der Luft ausgesetzt, verharzt, wie bekannt ist, das ätherische Öl mit Phosphor sehr schnell und man kann die geringste Menge des noch unzersetzten Phosphors in diesen Ölen erkennen, wenn man dieselben mittels Schwefelsäurehydrat zersetzt, wo die Masse dann herrlich phosphoresziert."

Die durch die Fälle von Andant und Sorbet für die praktische Medizin akut gewordene Frage über das Reaktionsprodukt aus Phosphor und Terpentinöl studierte dann um 1870 H. Köhler (l. c.) genauer von der chemischen Seite her. Hier im Auszug seine Resultate. Beim Zusammenbringen von Phosphor mit Terpentinöl im offenen Kolben — also bei Luftzutritt! — bei einer Temperatur von 40° (wohl R.? Verf.) wird unter häufigem Umschwenken neben etwas rotem Phosphor eine wallrathartige Substanz von krystallinischem Gefüge erhalten, die durch Abpressen von anhaftender Flüssigkeit befreit wird. Eine von Köhler 1870 dargestellte, in einer dicken Glasröhre eingeschmolzene Portion erbte Kobert von Köhler und hat sie noch viele Jahre aufbewahrt. Sie hatte ihren Charakter nicht im mindesten geändert. Der

---

1) A. Fischer, Arch. f. d. ges. Physiol. **97**, 1903.

2) A. Walcker, Poggendorfs Annal. d. Phys. u. Chem. **6**, 1826.

3) Jonas, Liebigs Annal. d. Chem. **84**, 1846.

Luft ausgesetzt, verändert diese Masse sich sehr bald; sie wird gelbgrünlich und klebrig. In Wasser unlöslich, löst sich diese Substanz in einigen organischen Flüssigkeiten, vornehmlich in Alkohol und auch in wässerigem Alkali; auch geht sie mit Schwermetallen Verbindungen ein und gehört zu den stärkstreduzierenden Substanzen, die es überhaupt gibt. Aus diesen Gründen wurde das Produkt von Köhler mit dem Namen terpentinphosphorige Säure belegt. Sie ist nach ihm in alkalischer Lösung unverändert destillierbar, zeigt opodeldokartigen Geruch, ist bei Tieren verfüttert ziemlich ungiftig und erscheint unverändert im Harn. Die Analysen geben aber so verschiedene Zahlen für den Gehalt an P, C und H, daß das Vorliegen einer einheitlichen chemischen Verbindung nicht behauptet wird, sondern nur die Existenz von terpentinphosphorigen Säuren. Dem Zustandekommen dieser Verbindung verdankt nach Köhler das sauerstoffhaltige Terpentinöl seine antidotarischen Eigenschaften dem Phosphor gegenüber, da im Harn mit Terpentinöl behandelten phosphorvergifteten Individuen sich terpentinphosphorige Säure nachweisen läßt.

Rommelaere (l. c.) findet in der Substanz 9,74% P, Fort[1]) dagegen 16,85% P und meint: „L'essence de térébenthine forme donc avec le phosphore et l'oxygéne deux composés; le premier, celui qui à été analysé par Rommelaere, a pour formule $PH(C_{10}H_{15})_2O_2$ et le second celui que nous venons d'étudier $PH_2(C_{10}H_{15})_2$".

Busch erhält bei seinen Analysen im Mittel 15,06% P, die von Professor G. Dragendorff ausgeführten Kontrollen ergeben 16,17 bis 16,5% P. Bei der Darstellung der terpentinphosphorigen Säure modifiziert Busch die Köhlerschen Angaben hierüber insofern etwas, als er höchstens 2,5 Teile Phosphor auf 100 Teile ätherisches Öl nimmt, um zu verhindern, daß das Reaktionsprodukt noch unveränderten Phosphor enthält. Wenn man jedoch liest, daß die von ihm hergestellte terpentinphosphorige Säure ein Gift ist, daß sie in der Weise des Phosphors, nur in viel milderer Form wirkt, und das in größeren Gaben diesem ganz analoge pathologisch-anatomische Veränderungen hervorruft, so kann man sich des Eindruckes nicht erwehren, daß sie doch nicht ganz frei von elementarem Phosphor war. Ihr unveränderter Übergang in den Harn, den Köhler angibt, findet sich bei Busch nicht bestätigt.

Einige der bisherigen chemischen Angaben über unseren Körper wurden unter R. Koberts Anleitung von A. Fischer nachgeprüft. Er fand, daß derselbe, nach dem Vorgang von Busch dargestellt, kein Gemisch von Phosphor und Terpentinöl ist, daß bei der Destillation einer Temperatur von 100° mit Wasserdampf keine der beiden Komponenten sich im Destillat nachweisen läßt.

St. Minovici[2]) erwärmte ein Gemisch von Phosphor und kurz vor-

[1]) J. Fort, Des combinaisons chimiques du phosphore et de l'essence de térébenthine; deductions physiologiques et cliniques. Thèse de Paris 1881.

[2]) St. Minovici, Pharmaz. Zentralhalle 1904, Nr. 28.

her destilliertem Terpentinöl im Verhältnis 1 : 10 2 Stunden lang auf 50°. Nach dem Erkalten goß er vom ungelöst gebliebenen Phosphor ab und gewann aus dieser Lösung durch Stehenlassen an der Luft und öfterem Dekantieren die wachs- oder paraffinähnliche weiße Substanz. Er beschreibt sie dann weiter: „Wird dieselbe mit Petroläther ausgewaschen und auf einer porösen Platte getrocknet, so bildet sich ein weißes Pulver, das, deutlich nach Knoblauch, Phosphor und Terpentinöl riechend, sich an der Luft nicht entzündet, aber mit leuchtender Flamme rauchbildend und einen Knoblauchgeruch verbreitend, brennt. Bei 85° tritt vollständiges Schmelzen ein. Das Pulver ist leicht löslich in Alkohol und Chloroform und wird in letzterem beim Hinzufügen von Äthyläther oder Petroläther nicht niedergeschlagen. Dasselbe ist unlöslich in Äther, Benzol, Wasser und Säuren. Wird das Pulver der Luft ausgesetzt, so wird dasselbe nach kurzer Zeit gelb, es bekommt das Aussehen eines durchsichtigen Harzes oder Balsams, es wird weich, elastisch, leimig. Bleibt es längere Zeit im Trockenapparat, so bildet es zu allerletzt ein Harz ähnlich dem Kolophonium. Selbst in einem verschlossenen Glasgefäß aufbewahrt, erweicht dasselbe und schwitzt eine klare, stark bewegliche Flüssigkeit aus, die oberhalb der leimartigen Masse schwebt.

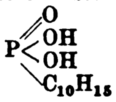
In der Elementaranalyse fand Minovici für gewöhnlich

$$C = 54{,}79\,\%,$$
$$H = 8{,}02\,\%,$$
$$P = 13{,}59\,\%$$

und berechnet für eine Verbindung von der Formel $PO_3H_2C_{10}H_{15}$

$$C = 55{,}55\,\%,$$
$$H = 7{,}87\,\%,$$
$$P = 14{,}35\,\%.$$

Letztere ist aber ein monoterpentiniges Phosphit, von der phosphorigen Säure sich ableitend, und Minovici nimmt an, daß demnach der terpentinphosphorigen Säure nachstehende Formel zukomme:



A. Colson[1]) in Paris, der die Umwandlung von gelbem Phosphor in andere Modifikationen unter dem Einfluß von Lösungsmitteln studierte, fand, daß Phosphor bei Luftabschluß von Terpentinöl zwar in der Hitze gelöst, in der Kälte aber unverändert in Krystallen wieder abgeschieden wird, während roter Phosphor sich in Terpentinöl gar nicht löst. Unter Umständen kann sich in Terpentinöl aber gelber Phosphor in der Hitze in roten umlagern und zwar unter Bildung von Phosphorwasserstoff.

Ganz anders aber sind die Vorgänge der Lösung von Phosphor in Terpentinöl bei Luftzutritt. Die diesbezüglichen wichtigsten Beobachtungen Colsons[2]) mögen hier in der Übersetzung folgen:

---

[1]) A. Colson, Annales de Chimie et de Phys. 14, 554, 1908; Compt. rend. 145, 1167, 1908; Compt. rend. 146, 71 und 401, 1908.

[2]) A. Colson, Sur la semicatalyse: oxydation d'hydrocarbures à l'air en présence du phosphore. Compt. rend. 146, 817, 1908.

„... Hierbei trübt sich die Flüssigkeit, läßt einen weißen Niederschlag ausfallen, der bald die Form eines Gerinnsels annimmt, bald kolloidal ist, einen Geruch zeigt, unlöslich in Wasser, aber löslich in Äther, und besonders in Essigsäure ist. Dieser Niederschlag wurde abgesaugt und schnell mit trockenem Äther gewaschen; als Trias enthielt er Phosphor, Terpentinöl und einen Überschuß von Sauerstoff. Mit Wasser zusammengebracht, zersetzt sich das Produkt nicht und rötete Lackmus nicht; es enthielt also keine freie Phosphorsäure. Löslich war es in ammoniakalischem Wasser, enthielt also kein freies Terpentinöl mehr. Ein kampherartig riechendes Harz, vom Schmelzpunkt 77 bis 78°, das aus einer ätherischen Lösung und Trocknen an trockener Luft gewonnen wurde, zeigte die Zusammensetzung $PO_4H_3(C_{10}H_{16}O_3)_2$

	Gefunden	Berechnet
P in %	6,36	6,60
C „ „	51,54	51,52
H „ „	7,58	7,50

Die Formel $PO_4H_3(C_{10}H_{16}O_3)_2$ wurde der Verbindung in dieser Form ein wenig aus Gründen der Symmetrie gegeben, besonders um die Oxydation des Terpentinöls $C_{10}H_{16}$ deutlich zu zeigen. Sie verläuft verschieden, je nach den Bedingungen, unter denen man den Versuch macht; stets aber scheinen bei der Oxydation zwei Moleküle Kohlenwasserstoff auf ein Atom Phosphor zu kommen. Das Produkt schien in essigsaurer Lösung nicht beständig zu sein, da der Schmelzpunkt sich beim Älterwerden der Lösung erhöhte. Was nun auch die Konstitution dieser Verbindung sein mag, eine Oxydation des Terpentinöls steht fest. Sowie sie ganz unmittelbar und in einem weiten Temperaturspielraum eintritt, lehnt sie sich in keiner Weise an die langsam verlaufenden Oxydationen an.

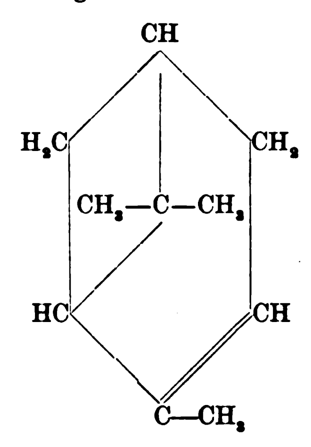
Es ist eine Art Katalyse, da ja ohne den Phosphor das Terpentinöl sich nicht oxydiert; aber gegenüber den sonstigen Erscheinungen der Katalyse verändert sich hier der Phosphor. Daher der Name Semikatalyse, den ich diesen stürmischen Erscheinungen beilege, bei denen der Sauerstoff in verschiedenen Mengenverhältnissen gebunden wird, obgleich das Verhältnis des in Reaktion getretenen Terpentinöles keineswegs ein beliebiges ist.

Nach diesen verschiedensten Angaben muß angenommen werden, daß, wenn überhaupt eine Reaktion zwischen Phosphor und den Terpenen der ätherischen Öle stattfindet, hierbei verschiedene Produkte entstehen. Denn die Angaben von Rommelaere und Colson, die in ihren Substanzen zirka 6 bis 9% Phosphor fanden, differieren so sehr von denen von Fort, Busch und Minovici, die ca. 15 bis 16% Phosphor erhielten, daß man hierin kaum Werte erblicken kann, die innerhalb der Analysenfehlergrenze liegen. Möglich,

daß hierbei die Bedingungen, unter denen gearbeitet wurde, mitsprechen; wahrscheinlicher ist aber die Art des angewandten Terpentinöles von Einfluß auf die Endprodukte. Für uns gilt es, als erste Frage nachzuprüfen:

Gibt es Verbindungen, die durch Einwirkung elementaren gelben Phosphors auf Kohlenwasserstoffe der Terpenreihe entstehen? Unter welchen Umständen bilden sich eventuell solche, und wie ist ihr chemisches Verhalten?

Zuvörderst möge ganz kurz das hier in Betracht Kommende über Terpentinöl rekapituliert werden[1]). Den Weltmarkt beherrscht amerikanische und französische Ware. Spanisches, deutsches, österreichisches und russisches Öl haben nur lokale und untergeordnete Bedeutung. Ihre chemische Zusammensetzung ist fast gleich; alle Sorten bestehen aus Kohlenwasserstoffen von der Formel $C_{10}H_{16}$. In Spuren können u. a. Limonen, Camphen und Fenchen vorkommen. Der Hauptsache nach bestehen sie, wie Wallach[2]) zeigte, aus ihrem optischen Verhalten nach zwar verschiedenen, chemisch aber identischen ungesättigten Verbindungen: l- und d-Pinen:



Das Überwiegen der einen oder anderen dieser beiden Komponenten richtet sich nach dem Produktionslande. Pinen bildet auch einen Hauptbestandteil sehr vieler anderer ätherischer Öle.

[1]) E. Gildemeister und F. Hoffmann, Die ätherischen Öle, Berlin 1899.

[2]) Wallach, Liebigs Annalen 227, 300, 1885.

Es fiel schon früh auf, daß Terpentinöl, das der Luft und dem Licht ausgesetzt war, sich veränderte: dickflüssiger wurde, einen scharfen Geruch und saure Reaktion, sowie höheres Volumengewicht und niedrigere Polarisation annahm, in Alkohol löslicher wurde und vor allem die Fähigkeit erhielt, andere Körper energisch zu oxydieren. Hieraus schlossen Schönbein, Berthelot, Houzeau u. a., daß diese Veränderungen auf eine langsame Oxydation durch den Sauerstoff der Luft zurückzuführen seien, indem das Öl den Sauerstoff in die aktive Modifikation, das Ozon, überführe und sich hiermit belade. Man nannte ein so verändertes Produkt infolgedessen „ozonisiertes Terpentinöl". Später erblickten Kingzett, Bardsky und Papasogli die Fähigkeit, zu oxydieren, in der Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd. Diese Veränderungen und besonders den scharfen Geruch führte H. Schiff[1]) auf das Vorhandensein einer aldehydartigen Verbindung $C_{10}H_{16}O_2$, die er durch Natriumbisulfit dem Öl entziehen konnte, zurück. C. Engel und J. Weißberg[2]) stellten die Beantwortung der Frage jedoch dahin, daß weder von der Bildung von Ozon, noch von Wasserstoffsuperoxyd die Rede sein könne. Sie erkannten, daß durch Autoxydation sich zunächst eine superoxydartig Verbindung durch Anlagerung von einem Molekül Sauerstoff an die doppelte Bindung des Pinens bildet, ein Anlagerungsprodukt, das leicht ein Atom Sauerstoff abgibt, das dann die oxydierende Wirkung auszuüben vermag. Als Temperaturoptimum fanden sie für diesen Vorgang ca. 100°. Statt „ozonisiertes" nennt man ein solches Terpentinöl daher besser „oxydiertes" oder „peroxydhaltiges". Die pharmakologischen Wirkungen dieser Substanz beschrieb seinerzeit Pallop[3]).

Jetzt eben fanden C. T. Kingzett und R. C. Woodcock (Journ. Soc. Chem. Ind. 31, 265, 1912), daß bei der Einwirkung von Luftsauerstoff auf amerikanisches und russisches Terpentinöl, Pinen und andere Terpene neben Ameisensäure und Essigsäure Wasserstoffsuperoxyd entsteht. Dieselben Autoren haben schon

---

[1]) Schiff, Chem.-Ztg. **20**, 360, 1896.

[2]) C. Engel und J. Weißberg, Berl. Ber. **31**, 3046, 1898, **33**, 1090, **34**, 2933, 1901.

[3]) E. Pallop, Über die Wirkung des sog. ozonisierten Terpentinöls. Inaug.-Diss. Dorpat 1889.

in demselben Journal (29, 791, 1910) über etwas Ähnliches berichtet.

Die Einwirkung von reinem Ozon auf Kohlenwasserstoffe der Terpenreihe ist neuerdings von C. Harries[1]) und H. Neresheimer[2]) untersucht worden. Die erhaltenen Körper nennen diese Autoren Ozonide. Da aber die Bedingungen für ihr Entstehen bei der Autoxydation nicht gegeben sind, kann Näheres darüber hier füglich übergangen werden.

Wie eingangs schon erwähnt, erblicken viele in diesem oxydierten Terpentinöl als Oxydationsmittel die antidotarischen Eigenschaften gegen den Phosphor. Sie stellen sich die Reaktion so vor, daß das peroxydhaltige Öl ähnlich wie Kaliumpermanganat oder Wasserstoffsuperoxyd den elementaren Phosphor zu anorganischen Phosphoroxyden oxydiere, die ja nach unseren heutigen Anschauungen ungiftig sind.

Um diesen Vorstellungen zu begegnen, stellte ich meine Versuche mit vorher nach den Angaben des Deutschen Arzneibuches frisch rektifizierten Ölen und mit ganz reinen Kohlenwasserstoffen an. Nur zwei andere ätherische Öle habe ich so, wie sie vorgefunden wurden, benutzt.

Mit frisch gereinigtem französischen Terpentinöl wurde eine dunkle Flasche völlig gefüllt, rund 1,8% Phosphor hinzugegeben, rasch verschlossen und kurze Zeit in ein mäßig warmes Wasserbad gebracht. Nach mehrmaligem Umschütteln war eine völlig klare Lösung entstanden, die auch nach dem Erkalten keine Phosphorkügelchen ausfallen ließ. Während dreier Tage veränderte sich die Lösung nicht. Als jetzt die Flasche geöffnet wurde, machte sich ein intensiver Phosphorgeruch bemerkbar. Der Inhalt wurde nun in Krystallisierschalen ausgegossen und nach wenigen Minuten trat das öfter beschriebene Phänomen ein: die Lösung trübte sich, an der Oberfläche bildete sich ein Häutchen, das nach Erschütterung der Gefäße in Form eines weißen käsigen Gerinnsels zu Boden sank, der Phosphorgeruch verschwand. Unter dem Mikroskop ließen diese Massen irgendeine krystallinische Struktur nicht erkennen. Nach dem sie etwa 20 Stunden in Kontakt mit dem überschüssigen Öl geblieben

[1]) C. Harries, Liebigs Ann. 343, 311, 1905.

[2]) C. Harries und H. Neresheimer, Berl. Ber. 41, 38, 1908.

waren, hatten sie sich in Form eines gelben Harzes an die Gefäßwandungen festgeklebt. Das Harz wurde losgelöst und zwischen Tonplatten unter der Presse mit sehr starkem Druck ausgepreßt. Der nun restierende Körper war ein gelbes, völlig homogenes trockenes Harz, das sich im Mörser zu einem weißlichen, außerordentlich hygroskopischen Pulver zerreiben ließ.

Zum Zwecke der Phosphorbestimmung wurde im Tiegel mit Salpeter-Sodagemisch zerstört. 0,6424 g Substanz gaben 0,3114 g $Mg_2P_2O_7$ = 13,49 % P.

Rektifiziertes deutsches Terpentinöl wurde mit ca. 1 % Phosphor versetzt. Aus der Lösung, die sich vorher genau so verhielt, wie die mit französischem Öl bereitete, wurde ein Teil der durch Berührung mit der Luft entstandenen weißen Massen schon nach 1/2 Stunde herausgenommen, ausgepreßt und mit dem jetzt erhaltenen Harz eine Phosphorbestimmung ausgeführt:

0,2754 g Substanz gaben 0,1360 g $Mg_2P_2O_7$ = 13,80 % P.

Ein zweiter Teil wurde noch zwei Tage lang zusammen mit dem Überschuß von Terpentin belassen, und zwar tagsüber auf einem mäßig warmen Wasserbade. Die dann ausgeführte Phosphorbestimmung des abgepreßten Harzes ergab folgendes Resultat:

0,4544 g Substanz gaben 0,2182 g $Mg_2P_2O_7$ = 13,35 % P.

Zwei andere ätherische Öle: Zitronenöl und Eukalyptusöl wurden mit ca. 2 % Phosphor in ganz gefüllten verschlossenen Fläschchen kurze Zeit erwärmt. Der Phosphor löste sich zwar, die entstandene Lösung war aber milchig getrübt und enthielt an den Gefäßwandungen anhaftende Gerinnsel. In Schalen gegossen vermehrten sich die Niederschläge rasch, verharzten bald und zeigten nach dem Abpressen dieselben Eigenschaften wie die Produkte aus Terpentinöl. Hier wurden nur qualitative Phosphorbestimmungen ausgeführt.

Beim Vermischen eines 1 %igen Phosphorolivenöles mit einigen anderen aufs Geratewohl herausgegriffenen ätherischen Ölen, nämlich mit Rosmarinöl, Lavendelöl, Bergamottöl, trübte sich das Gemisch bald, ja nach einigem Stehen war sogar geringe Ausflockung zu beobachten. Deshalb könnte man sich verwundern, wenn im Deutschen Arzneibuch V unter Phosphor seine Löslichkeit in fetten und ätherischen Ölen in einem Atemzuge genannt wird, ohne zu erwähnen, daß dies

ohne Umsetzungen nur bei ganz frischen ätherischen Ölen und bei Luftabschluß der Fall ist.

Hieran anschließend soll schon vorweggenommen werden, daß auch der Vorschlag von Schweissinger[1]) und P. Borisch[2]), als Konservierungsmittel dem Phosphoröl Limonen zuzusetzen, nicht als gerade sehr glücklich bezeichnet werden kann.

Bei Limonen und Phosphor wurde wie oben gearbeitet, nur war hier der Phosphorzusatz ein viel größerer, so daß sich beim Abkühlen der Lösung — immer unter Luftabschluß — bedeutende Mengen unveränderten Phosphors am Boden der Flaschen ansammelten, von denen klar abgegossen und hieraus nach Stehenlassen bei Luftzutritt und Abpressen das Harz gewonnen wurde, mit folgendem Phosphorgehalt:

0,1998 g Substanz gaben 0,0934 g $Mg_2P_2O_7$ = 12,98 % P.
0,2592 „ „ „ 0,1258 „ „ = 13,51 % P.

Zu den nun folgenden Versuchen wurde ausschließlich von Schimmel & Co. bezogenes l-Pinen aus spanischem Terpentinöl verwandt, das folgende Konstanten hatte: spezifisches Gewicht 0,848, Siedepunkt 159° α_D im 100 mm-Rohr — 27,4°.

Die Darstellung der Pinen-Phosphorverbindung wurde zuerst wie früher betrieben, d. h. es wurde nach dem Vorschlag von Busch (l. c.) nicht mehr als 2,5 % Phosphor genommen und die Lösung bei Zimmertemperatur dem Lufteinfluß überlassen. Der Phosphorgehalt wurde hier im Mittel zu 13,7 % gefunden. Da aber so die Ausbeute nicht sehr groß war, wurde nach einigem Herumprobieren folgendes Verfahren als recht rationell erkannt. Ein geräumiger Rundkolben wurde mit Phosphor und Pinen beschickt, aufs siedende Wasserbad gebracht und ein lebhafter Luftstrom hindurchgesaugt. Hierbei kam es auf das Mengenverhältnis der beiden Körper nicht so sehr an; wurden 5, ja 10 % Phosphor genommen, so dauerte seine völlige Umwandlung nur viel länger. Die durch Abpressen vom überschüssigen noch anhaftenden Pinen befreiten Massen wurden in Natronlauge gelöst und diese klare gelbe Lösung im Scheidetrichter mit überschüssiger Salzsäure versetzt. Die darauf ausfallenden Massen wurden mit Chloroform aufge-

---

[1]) Schweissinger, Pharmaz. Zentralhalle **1902**, 295.
[2]) P. Bohrisch, Pharmaz. Zentralhalle **1909**, 618.

nommen und dieser Chloroformauszug mehrmals mit reinem Wasser gewaschen, um etwa noch vorhandene Salzsäure zu entfernen. Die Lösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet, dann auf dem Wasserbade, und als sie anfing sirupdick zu werden, mit Hilfe des Vakuums bei sehr gelinder Wärme abgedunstet.

So konnte man sichergehen, daß kein unveränderter Kohlenwasserstoff, auch nicht Spuren elementaren Phosphors zugegen waren und hierdurch eine Trübung des klinischen Bildes bei späterer Verfütterung großer Dosen nicht zu befürchten war.

Die Substanz löste sich nicht in Wasser, leicht in Alkohol, Chloroform, Aceton, ganz wenig nur in Äther, Petroläther, Benzol, gut auch in Essigsäure, ätzenden und kohlensauren Alkalien. Die organischen Lösungen reagierten gegen Lackmus sauer. Alkalische Kupfer-, Wismut- und ammoniakalische Silberlösung wurden beim Kochen reduziert. Der Geruch war schwach, spezifisch, nicht deutlich an Phosphor erinnernd. Alles dies gilt auch für die vorher aus Terpentinölen und anderen Terpenen bereiteten Produkte. Die Harzsäure aus Pinen-Phosphor war bei 82 °/₀ geschmolzen.

Die Phosphorbestimmungen wurden hier nach der Methode von A. Neumann ausgeführt. Das Prinzip ist kurz, daß die organische Substanz im Kjeldahlkolben mit einem Gemisch von konzentrierter Schwefelsäure und Salpetersäure zerstört wird. Die Resultate fielen durchweg etwas höher aus, als bei der Verpuffung mit Soda-Salpeter, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß bei letzter Methode trotz sorgfältigen Arbeitens Verluste nicht ganz vermieden werden können.

0,3436 g Substanz 0,1780 g $Mg_2P_2O_7$ = 14,42 % P
0,5286 „ „ 0,2756 „ „ = 14,51 % P
0,2130 „ „ 0,1092 „ „ = 14,27 % P

Die nun mit Kupferoxyd ausgeführten Verbrennungen wurden 6 Stunden lang unterhalten. Es ergab sich:

I. 0,2964 g Substanz gaben 0,5956 g CO_2 + 0,2214 g H_2O
= 54,79 % C + 8,31 % H

II. 0,1840 g Substanz gaben 0,3688 g CO_2 + 0,1344 g H_2O
= 54,66 % C + 7,99 % H

III. 0,3252 g Substanz gaben 0,6560 g CO_2 + 0,2406 g H_2O
= 55,01 % C + 8,20 % H

Als Mittelwerte ergeben sich in %

$$P = 14{,}40$$
$$C = 54{,}82$$
$$H = 8{,}17$$

berechnet für $O = 22{,}61$

Durch die Atomgewichte dividiert ergibt sich

$$P = 14{,}40 : 31 = 0{,}4645$$
$$C = 54{,}82 : 12 = 4{,}5683$$
$$H = 8{,}17 : 1 = 8{,}1700$$
$$O = 22{,}61 : 16 = 1{,}4141$$

Durch die kleinste dieser Zahlen: 0,4645 dividiert ergibt sich

$$0{,}4645 : 0{,}4645 = P_1$$
$$4{,}5683 : 0{,}4645 = C_{9,83}$$
$$8{,}1700 : 0{,}4645 = H_{17,59}$$
$$1{,}4141 : 0{,}4645 = O_{3,02}$$

Diese durch die Elementaranalyse gefundenen Werte lassen keinen Zweifel bestehen, daß in der Substanz auf **ein** Atom Phosphor **ein** Atom Kohlenwasserstoff und **drei** Atome Sauerstoff kommen. Nicht ganz klar ist jedoch, ob in ihr H_{17} oder H_{18} enthalten ist. Ein Vergleich mit der berechneten prozentualen Zusammensetzung von $PO_3C_{10}H_{17}$ und $PO_3C_{10}H_{18}$ läßt beide Möglichkeiten zu.

$P = 14{,}34\,\%$	$P = 14{,}27\,\%$
$O_3 = 22{,}21\,\%$	$O_3 = 22{,}06\,\%$
$C_{10} = 55{,}52\,\%$	$C_{10} = 55{,}27\,\%$
$H_{17} = 7{,}92\,\%$	$H_{18} = 8{,}35\,\%$

Einstweilen soll für die folgenden Berechnungen $216 = PO_3C_{10}H_{17}$ als Molekulargewicht angenommen werden.

Zur weiteren Klärung wurden einige Salze hergestellt, zunächst das Natriumsalz.

Wie erwähnt, löst sich die Säure leicht in ätzendem und kohlensaurem Alkali. Es wurde nun zur gewogenen Menge überschüssige n/4-NaOH gebracht, erwärmt und der Überschuß mit n/4-HCl zurückfiltriert. 0,6432 g banden 7,7 ccm n/4-NaOH.

216 = Molekulargewicht binden also 2575 ccm n/4-NaOH. 1,3500 g banden 15,7 ccm n/4-NaOH.

216 = Molekulargewicht binden also 2519 ccm n/4-NaOH.

Dies zeigt, daß auf das angenommene Molekulargewicht von 216 mit 1 Atom Phosphor ziemlich genau 1 Molekül

Natron kommt, d. h. daß hiernach eine einbasische Säure vorliegen dürfte. Eine größere Menge Substanz wurde in der berechneten Menge NaOH gelöst und auf dem Wasserbade zur Trockne eingedampft. Es hinterblieb eine durchsichtige gelbe Masse, die nach dem Erkalten sich leicht zu einem weißen Pulver zerreiben ließ, das bei 105° völlig geschmolzen war. An der Luft zog es weniger Feuchtigkeit an wie die Muttersubstanz und hielt sich im Exsiccator aufbewahrt mehrere Wochen unverändert. Dann aber nahm es eine dunklere Färbung an und seine wässerige Lösung reagierte jetzt deutlich sauer. Die wässerige Lösung trübte sich nach Verdünnen mit viel Wasser etwas unter Fluorescenterscheinungen, wurde aber nach einiger Zeit wieder klar. In Alkohol und Chloroform war das Natriumsalz ebenfalls leicht löslich. Bei Erhitzen über 120° bräunte es sich unter Verbreitung eines sehr üblen Phosphingeruches.

Das Ammoniumsalz, durch Lösen der Säure in Ammoniak hergestellt, hinterblieb nach mehrstündigem Erwärmen auf dem Wasserbade als dickes dunkles Öl, das auch in der Kälte nicht fest wurde.

Weiter wurde die Säure mit einem Überschuß von Lithiumcarbonat und Wasser gekocht, vom ungelösten Carbonat abfiltriert und das Filtrat eingedunstet. Dem Abstandrückstand, der noch beträchtliche Mengen mit in Lösung gegangenen Carbonates enthielt, wurde das Lithiumsalz der Harzsäure mit starkem Alkohol entzogen. Beim Verdunsten hinterblieb es in Form gelblich-weißer Harzschüppchen, die bei 124° schmolzen, sehr luftbeständig waren und sich, außer in Alkohol, auch leicht in Wasser lösten.

Die Lithiumbestimmung ergab:

0,6692 g gaben 0,1198 $Li_3PO_4 = 3{,}31\,\%$ Li
berechnet: $3{,}10\,\%$ Li

Zur Herstellung eines Bariumsalzes wurde die wässerige Lösung des Natriumsalzes mit sehr verdünnter Bariumchloridlösung versetzt, worauf ein weißer, kolloidaler Niederschlag ausfiel, der getrocknet ein weißes amorphes Pulver bildete, das luftbeständig war und sich in keinem der bekannten Lösungsmittel auflöste.

Die Bariumbestimmung ergab:

0,4322 g gaben 0,1728 g $BaSO_4$ = 23,53 % Ba
0,5544 g „ 0,2204 g „ = 23,46 % Ba
berechnet: 24,05 % Ba

Weiter wurde die Säure mit Wasser und überschüssigem basischem Bleicarbonat einige Zeit gekocht; das klare Filtrat war schön gelb gefärbt. Es wurde eingedunstet und dem Rückstand mit 70 %igem Alkohol das Bleisalz entzogen. Es hinterblieb nach dem Verdunsten in Form kleiner gelber, seidenglänzender Schüppchen, die luftbeständig waren und sich in Wasser und Alkohol lösten.

Die Bleibestimmung ergab:

0,3884 g gaben 0,1896 g $PbSO_4$ = 33,31 % Pb
0,2940 g „ 0,1428 g „ = 33,16 % Pb
berechnet: 32,28 % Pb

Die Analysen der Fällungen mit essigsaurem Blei und mit Bleiessig gaben abweichende, nicht übereinstimmende Resultate. Auch waren die bei den Analysen der Quecksilber- und Kupferniederschläge gefundenen Werte nicht mit den obigen in Einklang zu bringen.

Hiernach dürften den ermittelten Salzen nachstehende Formeln zukommen:

$$C_{10}H_{16}O_2P-ONa$$
$$C_{10}H_{16}O_2P-OLi$$
$$\begin{matrix} C_{10}H_{16}O_2P-O \\ C_{10}H_{16}O_2P-O \end{matrix}\Big> Ba$$
$$\begin{matrix} C_{10}H_{16}O_2P-O \\ C_{10}H_{16}O_2P-O \end{matrix}\Big> Pb$$

Sie bestätigen, daß hier eine einbasische Säure vorliegt.

Eine 5 %ige alkoholische Harzlösung und eine 5 %ige wässerige Natronsalzlösung veränderte, im 200 mm-Rohr polarisiert, die Ebene des Lichtes nicht. Durch keine Manipulation waren aus dem Harz Produkte von krystallinischem Gefüge zu gewinnen. Entgegen den Angaben von Köhler und in Übereinstimmung mit denen von Busch und Fischer ging mit Wasserdampf weder aus der Lösung in Natronlauge, noch aus der in Alkohol, noch aus der Suspension der Säure in reinem Wasser etwas ins Destillat über. Schon beim längeren Erwärmen auf eine Temperatur von etwas über 100° zersetzte

sich die Substanz unter Entwicklung von gasförmigem Phosphorwasserstoff. Beim Erhitzen im Fraktionierkolben ging oberhalb von 180° eine schwach gelb gefärbte phosphorfreie Flüssigkeit über. Diese addierte, mit Schwefelkohlenstoff verdünnt und in eine Kältemischung gesetzt, Brom und ließ dann weiße Kryställchen ausfallen, die sich in Äther, Alkohol und Chloroform lösten und bei 96° geschmolzen waren. Durch alkoholische Kalilauge ließ sich aus der Bromverbindung eine schwach nach Campher riechende, leichtbewegliche Flüssigkeit abspalten, die bei 187° siedete. Diese Konstanten für das Bromadditionsprodukt wie auch für den halogenfreien Körper passen für Verbindungen, die Wallach[1]) als Pinoldibromid $C_{10}H_{16}Br_2O$ und als Pinol $C_{10}H_{16}O$ beschreibt. — Über 200° erhitzt lieferte das Harz dann braune, entsetzlich riechende phosphorhaltige Öle.

Bei der Reduktion mit Zink und Schwefelsäure, ebenso mit Natrium und Alkohol entstanden zähe, gelbe ölige Produkte von charakteristischem Phosphingeruch, die sich bei Versuchen, sie zu isolieren, als äußerst labil erwiesen.

Eine eisgekühlte Lösung der Substanz in Schwefelkohlenstoff färbte sich beim tropfenweisen Zusatz eines ebenfalls kalten Brom-Schwefelkohlenstoffgemisches intensiv gelbbraun und zeigte deutlich Bromgeruch, was sich auch beim längeren Stehenlassen nicht änderte: ein Zeichen, daß so kein Halogen angelagert wurde.

Das wässerige Natronsalz dagegen nahm unter Entfärbung reichlich Brom auf, es entwickelte sich dabei Bromwasserstoff. Das Produkt wurde durch Wasserdampfdestillation möglichst von diesem befreit, der Rückstand mit Salzsäure versetzt, der darauf entstehende Niederschlag wiederholt mit warmem Wasser bis zum Verschwinden der Salzsäurereaktion ausgewaschen, in Chloroform gelöst, diese Lösung über Natriumsulfat vom Wasser befreit, eingedunstet und schließlich im Vakuum völlig getrocknet. Es hinterblieb eine bräunliche Masse, die sich sehr leicht zu einem luftbeständigen Pulver zerreiben ließ. Nach der Methode von Pringsheim[2]) mit Hilfe von Natriumsuperoxyd zerstört,

---

[1]) Wallach, Liebigs Ann. 258, 249, 1889; 277, 115, 1893; 281, 148, 1894.

[2]) H. H. Pringsheim, Berl. Ber. 36, 4244, 1903.

ließ sich in ihr Brom nicht mehr nachweisen. Ihr Reduktionsvermögen hatte sie völlig eingebüßt, wogegen ihr Säurecharakter zugenommen hatte:

0,9122 g Substanz banden 19,3 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH

Mit einigen Tropfen Perhydrol und etwas Wasser auf dem Wasserbade erwärmt, wurde die Harzsäure dunkler und luftbeständiger. Sie reduzierte jetzt ebenfalls nicht mehr. Das so erhaltene Oxydationsprodukt löste sich gut in Alkohol, Chloroform und Alkali.

Aus später genauer zu besprechenden Gründen wurde es der Analyse unterworfen mit folgendem Ergebnis:

0,6724 g Substanz gaben 0,3160 g MgP_2O_7 = 13,09 % P
0,4224 g Substanz gaben 0,1996 g MgP_2O_7 = 13,14 % P
0,2456 g Substanz gaben 0,4544 g CO_2 + 0,1840 g H_2O
= 51,01 % C + 8,39 % H
0,3532 g Substanz gaben 0,6578 g CO_2 + 0,2580 g H_2O
= 50,83 % C + 8,21 % H

Aus den Mittelwerten ergibt sich beim Vergleich mit der Berechnung:

Gefunden	Berechnet
P = 13,12 %	P = 13,22 %
C = 50,92 %	C = 51,28 %
H = 8,30 %	H = 8,12 %
	O = 27,37 %

die Formel $PO_4C_{10}H_{19}$.

0,8936 g Substanz banden 18,3 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH
234 g = Molekulargewicht binden also 4792 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH
0,5540 g Substanz banden 11,1 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH
234 g = Molekulargewicht binden also 4852 ccm $^{n}/_{4}$-NaOH

Diese Werte passen annähernd für eine zweibasische Säure. Die Formel dafür läßt sich demnach auflösen: $P(OH)_2OC_{10}H_{17}O$.

Durch länger dauernde Oxydation selbst mit verdünnter Salpetersäure wurde aus der Ursubstanz Phosphorsäure abgespalten.

Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat wurden physikalisch sich sehr verschieden verhaltende Spaltungsprodukte erhalten, je nach den Bedingungen, unter denen gearbeitet wurde, in alkoholischer oder alkalischer oder saurer Lösung.

Um das Reduktionsvermögen der frisch hergestellten

Substanz festzustellen, wurde versucht, die Mengen des reduzierten Kupferoxyduls im Allihnschen Röhrchen zu wägen. Die gefundenen Werte waren aber nicht übereinstimmend wohl infolge der dem Cu_2O stets noch anhaftenden harzigen Bestandteile. Infolgedessen wurde zu einer gröberen Methode gegriffen, die, wenn sie auch nicht allzuviel besagt, doch deutlich zeigt wie rasch das Reduktionsvermögen bei längerer Aufbewahrung im Exsiccator abnimmt. Zu einer siedenden Lösung der Substanz in Natronlauge wurde aus einer Bürette tropfenweise so lange Fehlingsche Lösung des D. A. B. V. zugetropft, bis eben ein bläulicher Farbenton bestehen blieb. Auf 1 g Substanz berechnet, wurden gebraucht bis zur bleibenden Blaufärbung:

14,2 ccm Fehling bei ganz frischer Substanz,
6,7 „ „ nach 4 wöchentlicher Aufbewahrung,
3,4 „ „ nach ca. 12 wöchentl. „

Das Bindungsvermögen für Alkali, ebenfalls auf 1 g, nahm analog zu; es wurden gebunden:

11,7 ccm $^n/_4$-NaOH von ganz frischer Substanz,
15,2 „ „ nach 4 wöchentlichem Aufbewahren,
16,0 „ „ nach ca. 12 wöchentl. „

Beim Aufbewahren findet also wahrscheinlich derselbe Vorgang statt wie bei der Oxydation mit Bromwasser oder Wasserstoffsuperoxyd.

Nach diesen Untersuchungen scheint es mir außer jedem Zweifel, daß bei der Einwirkung von elementarem Phosphor auf Terpenkohlenwasserstoffe eine wirkliche chemische Verbindung, ein Oxydationsprodukt organischer Natur entsteht, daß es sich hier keineswegs um rein mechanische Vorgänge handelt. Es würde sich nun weiter fragen, was wird aus dem Posphoratom und dem Terpenmolekül, inwieweit sind sie in der Verbindung verändert? Es wurde deswegen versucht, auf anderem Wege zu derselben Verbindung zu kommen. Nach den Angaben Semmlers[1]): „Stickstoff, Phosphor und andere dreiwertige Metalloide konnten bisher an Kohlenwasserstoffe nicht angelagert werden. — Wohl aber reagieren phosphorige Säure usw. zum Teil spielend leicht mit gewissen Kohlenwasserstoffen und

[1]) F. W. Semmler, Die ätherischen Öle, Leipzig 1906, Bd. I, S. 109.

liefern Verbindungen von großer Krystallisationsfähigkeit", wurde zunächst phosphorige Säure ins Auge gefaßt.

Wasserfreie phosphorige Säure und Pinen wurden im Kolben zusammengebracht, dieser verschlossen und einige Tage beiseite gestellt. Dann wurde einige Stunden lang auf dem Wasserbade erwärmt und schließlich auf offener Flamme erhitzt. Die Mischung blieb in zwei Schichten gesondert und hatte sich nur dunkler gefärbt. Aus ihr ließ sich das Pinen mit Wasserdämpfen unzersetzt wieder abtreiben.

Nach Michaelis[1]) lassen sich Verbindungen aromatischer Kohlenwasserstoffe mit Phosphor von Säurecharakter darstellen durch ca. 30stündiges Erhitzen am Rückflußkühler der betreffenden Kohlenwasserstoffe mit Phosphortrichlorid unter Zusatz von käuflichem wasserfreien Aluminiumchlorid. Es entstehen zunächst Chlorphosphine von der Formel $R.PCl_2$' die sich durch Petroläther ausziehen lassen und sich bei Wasserzusatz zu phosphinigen Säuren $RP\begin{smallmatrix}\diagup OH \\ = O \\ \diagdown H\end{smallmatrix}$ zersetzen.

Dementsprechend wurde einmal frisches Pinen so behandelt, dann dickflüssiges Pinen, das längere Zeit der Luft und dem Sonnenlicht ausgesetzt war, weiter Terpineol vom Schmelzpunkt 35° $C_{10}H_{17}OH$, und endlich Terpinhydrat in absolut alkoholischer Lösung. Die in allen diesen Fällen entstehenden Reaktionsprodukte — öliger und krystallinischer Natur — erwiesen sich als weit entfernt stehend von der erwarteten Verbindung und wurden, da dies über den Rahmen der vorliegenden Arbeit hinausgeht, nicht weiter beachtet.

Es wurde sodann ca. 50°/₀ige wässerige unterphosphorige Säure einmal mit frischem, dann mit peroxydhaltigem Pinen ca. 30 Stunden am Rückflußkühler erhitzt. Auch hier wurde der gewünschte Körper nicht erhalten.

Wenn Semmler (l. c. S. 160) auch sagt: „In freiem Zustande wirken die dreiwertigen Metalloide auf die Aldehyde und Ketone der ätherischen Öle ebensowenig ein wie auf die Kohlenwasserstoffe und deren Alkohole", so wurde versucht, aus Oxydations- bzw. Hydrationsprodukten des Pinens und Phosphor Verbindungen zu erhalten. — In Terpineol vom

---

[1]) A. Michaelis, Liebigs Ann. 293, 193, 1896.

Schmelzpunkt 35° wurde ein Phosphorstückchen gebracht, zum Schmelzen erwärmt und durchgeschüttelt, bis eine homogene Lösung entstanden war. Nach 5 Tagen war nicht nur im Mitscherlichen Apparat das Leuchten deutlich, sondern schon im gedämpften Tageslicht; das Gemisch roch intensiv nach Phosphor. Auch eine Lösung von Phosphor und Terpinhydrat in Schwefelkohlenstoff gab nach 5 Tagen eine positive Mitscherlichsche Probe, Beweis genug, daß in diesen beiden Fällen von einer chemischen Einwirkung der Terpenalkohole auf den Phosphor nicht die Rede sein kann.

Nach diesen Ergebnissen ist es wenig wahrscheinlich, daß unsere Substanz ein Derivat der phosphorigen Säure ist. Mit größerer Berechtigung kann man sagen, daß ihr Verhalten auf einen Abkömmling der unterphosphorigen Säure hinweist. Das Terpenmolekül liegt in ihr nicht in Form eines Alkoholradikals vor. Da die Bildung immer und unter allen Umständen vor sich geht, wenn außer Phosphor und Terpen Sauerstoff zugegen ist, so müssen die Bedingungen für das Zustandekommen der Reaktion gesucht werden in der Fähigkeit gewisser Terpene, Sauerstoff aufzunehmen und einen Teil desselben zur Oxydation anderer Körper wieder abzugeben.

Diesen Vorgang hat Colson mit dem, wie mir scheint, recht treffenden Ausdruck Semikatalyse belegt. — Aus dem Produkt der Autoxydation des Pinens wurde über Pinolhydrat $C_{10}H_{16}(OH)_2$ ein Körper Pinol $C_{10}H_{14}O$ mit einer doppelten Bindung und einem intramolekular eingelagerten Sauerstoffatom isoliert[1]). Bezeichnet man nun ganz allgemein analog die Produkte Autoxydation von Terpenkohlenwasserstoffen als Terpenole[2]), so kann unserer Verbindung der Name einer

[1]) Sobrero, Compt. rend. 133, 67. — Siehe außerdem die auf S. 300, Fußnote 1 zitierten Wallachschen Arbeiten.

[2]) Der Ausdruck „Terpinol" wurde von Wallach der Substanz ($C_{10}H_{16}O$) zugelegt, die beim Erwärmen von Terpinhydrat mit verdünnten Säuren entsteht, später aber als ein Gemisch erkannt ist. Da es sich bei den „Terpenolen" keineswegs um Alkohole handelt, sei wegen der Endung „ol" bezüglich der Genfer Nomenklatur um Nachsicht gebeten. — H. Hildebrand, Zeitschr. f. physiol Chem. 33, 581, 1901) nennt die Derivate der Terpene $C_{10}H_{16}$, in die dieselben im Organismus vor ihrer Paarung mit Glucuronsäure übergeführt werden müssen, ebenfalls „Terpenole" und gibt ihnen die Formel $C_{10}H_{16}O$.

terpenolunterphosphorigen Säure, in diesem Falle **pinolunterphosphorige Säure** von der Formel

$$P \begin{cases} OH \\ = O \\ C_{10}H_{16}O \end{cases}$$

gegeben werden. Daß sie in chemisch völlig reiner Form vorgelegen hat, soll damit schon wegen ihrer leichten Zersetzlichkeit nicht gesagt sein. Zusammenfassend läßt sich also sagen:

Durch Einwirkung von Kohlenwasserstoffen der Terpenreihe (Pinen) auf Phosphor entsteht bei Sauerstoffzutritt eine chemisch sehr labile harzige Verbindung mit reduzierenden Eigenschaften, die als eine einbasische Säure in Erscheinung tritt. In dieser Säure, wahrscheinlich einem Derivat der unterphosphorigen Säure, kommt auf ein Atom Phosphor ein Molekül Kohlenwasserstoff, in dem die doppelte Bindung gesprengt, dagegen intramolekular ein Atom Sauerstoff aufgenommen zu sein scheint.

Anhangsweise sei noch bemerkt, daß sich die terpenolunterphosphorigen Säuren durch Verwendung von peroxydhaltigen Terpenen viel schneller bildeten wie bei reinen Kohlenwasserstoffen.

Eine zweite Hauptfrage war nun folgende:

Wie verhalten sich diese terpenolunterphosphorigen Säuren im tierischen Organismus; sind sie giftig, und wie werden sie ausgeschieden?

An dieser Stelle sei nochmals darauf hingewiesen, daß Köhler sie ungiftig und unverändert im Harn wiedergefunden haben will, während Busch das Gegenteil behauptet.

Nachstehende Versuche wurden mit pinolunterphosphoriger Säure, bzw. deren Natronsalz, die höchstens 2 Wochen alt waren, ausgeführt.

Zunächst einige Vorversuche. — Auf gewisse Mikroorganismen wirkte das Natronsalz bei der Prüfung nach der von R. Kobert ersonnenen und von seinen Schülern weiter benutzten Milchschwefelmethode[1]) erst bei einer Konzentration

---

[1]) Näheres über diese sehr bequeme und einfache Methode siehe bei H. Brüning, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 8, 1906. — Der-

1:10 entwicklungshemmend ein: es besitzt also nur minimale antibakterielle Eigenschaften. — Dem Blut zugesetzt veränderte es dessen Spektrum nicht, insbesondere trat nicht das des Methämoglobins auf. Auf defibriniertes und mit physiologischer Kochsalzlösung verdünntes Blut wirkte es weder hämolysierend noch agglutinierend.

Ein vorzügliches Testobjekt zum Studium des Einflusses von Phosphor auf den Organismus ist das Huhn. A. Fränkel und F. Röhmann[1]) stellten zuerst fest, daß bei phosphorvergifteten Hühnern im Hungerzustande die Anzahl der roten Blutkörperchen erst allmählich, dann ganz rapide sinkt. Thaussig[2]) beobachtete bei dieser Tierart nach Applikation von letalen Phosphordosen eine enorme Zerstörung der roten Blutkörperchen und eine bedeutende Leukocytose. J. Vogel[3]) kommt nach seinen Untersuchungen zu folgendem Resultat: Nach kleinen, nicht letalen Phosphorgaben tritt beim Huhn eine Abnahme der Zahl der roten Blutkörperchen und des Hb-Gehaltes auf etwa die Hälfte, mit dem Höhepunkt am 3. bis 6. Tage ein. Gleichzeitig finden sich in den Exkreten reichliche Mengen von Gallenfarbstoffen. Nach Aussetzen der Phosphorverfütterung erholen sich die Hühner in längstens 1 Woche völlig.

Es wurde den Hühnern die terpenolunterphosphorige Säure (in den Protokollen abgekürzt = T.-P.) in Pillenform beigebracht. Die Zahl der roten Blutkörperchen (E.) wurde durch Auszählen von 80 Quadraten in jedesmal drei Präparaten in der Thoma-

---

selbe, Centralbl. f. inn. Med. 27, Nr. 14, 1906. — Karl Kobert, Ber. v. Schimmel & Co., Okt. 1906. — Derselbe, Pharm. Post, 1907, 627ff. — P. Kettenhofen, Arch. intern. de Pharm. et de Thérap. 17, 282, 1907. — H. Hildebrandt, Deutsche Ärzte-Ztg. 1908. — H. Regenstein, Studien über die Anpassung von Bakterien an Desinfektionsmittel, Inaug.-Diss. Breslau 1912. — R. Geinitz, Vergleichende Versuche über die narkotischen und desinfizierenden Wirkungen der gangbarsten ätherischen Öle und deren wirksame Bestandteile, Rostocker Preisarbeit 1912.

[1]) A. Fränkel u. F. Röhmann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 4, 439, 1880.

[2]) O. Thaussig, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 30, 161, 1892.

[3]) J. Vogel, Über die Wirkung des Phosphors auf die roten Blutkörperchen bei Hühnern, Inaug.-Diss. München 1902.

Zeißschen Zählkammer bestimmt, der Hb-Gehalt colorimetrisch nach Sahli. Die Blutproben waren aus einer Flügelvene entnommen und mit Hayemscher Lösung verdünnt.

1. Tierversuch. Huhn, 1800 g.

Tag	T.-P. g	E.	Hb %
0.	—	2956000	82
1.	1		
2.	1	2782000	85
3.	1		
4.	1	3122000	86
5.	1		
6.	1	3094000	82
7.	1		
8.	2	2888000	82
9.	2		
10.	2	3156000	85
14.	—	3032000	84

2. Tierversuch. Huhn, 1540 g.

Tag	T.-P. g	E.	Hb %
0.	—	3375000	90
1.	1		
2.	1	3296000	90
3.	1		
4.	1	3425000	88
5.	2		
6.	2	3398000	86
7.	2		
8.	2	3224000	90
12.	—	3284000	90

Alle zwei Tage wurden die Exkrete mit Alkoholäther ausgezogen und die intensiv grüne Lösung spektroskopiert. Das Spektrum war identisch mit dem des Chlorophylls — die Tiere hatten Grünfutter erhalten. Ein Verblassen des Kammes, wie es von den obigen Autoren erwähnt wird, war nicht festzustellen. Heute, nach 10 Wochen, sind die Hühner noch gesund.

Hiernach kann selbst von einer sehr geringen Phosphorwirkung beim Huhn nicht mehr die Rede sein.

Zu den beiden folgenden Tierversuchen wurde eine wässerige Lösung benutzt, die mit Natronlauge neutralisiert war und in 100 ccm 30 g terpenolunterphosphorige Säure enthielt. Sie wurde mit der Magensonde eingebracht.

3. Tierversuch. Kaninchen ♀, 2250 g.

Tag	T.-P. g
1.	3,0
2.	3,0
3.	3,0
4.	3,0

Am 5. Tage geht das Tier bei der ungeschickten Handhabung der Magensonde, die in die Lunge gerät, zugrunde. Es hatte wenig gefressen und saß stets scheu und zusammengekauert in einer Käfigecke.

Sektionsbefund: Beide Lungen schleimig ödematös. Die Magenschleimhaut erscheint im Fundus und am Pylorus leicht angeätzt. Darm, Leber, Niere und Herz makroskopisch o. B. Mikroskopisch in der Leber

ziemlich viel Fetttröpfchen, auch im Herzmuskel vereinzelt; nicht in der Niere.

4. Tierversuch. Kaninchen ♀, 2100 g.

Tag	T.-P. g
1.	3,0
2.	3,0
3.	3,0
4.	4,5
5.	6,0

Während dieser Zeit fraß das Tier wenig. Am 6. Tage nach der Fütterung traten Durchfälle ein, das Tier liegt auf dem Bauche ausgestreckt und macht einen kranken Eindruck. Am Morgen des 7. Tages wird das Kaninchen sehr unruhig: die Unruhe steigert sich gegen Mittag bis zu Konvulsionen, unter denen dann bald der Tod erfolgt.

Sektionsbefund: Blut von normaler Farbe. In der Brusthöhle nichts Auffallendes. Herz und Lunge sind normal, insbesondere frei von Ekchymosen; desgleichen das Bauchfell. Magen, Dünndarm und besonders der Dickdarm sind enorm aufgetrieben, die Gefäße dieser Organe sehr stark injiziert. Der Darminhalt ist schleimig-schaumig. Am Fundus des Magens mehrere pfennigstückgroße Ätzschorfe. Die Harnblase enthält wenige Kubikzentimeter trüben, nicht blutigen Urins. Leber und Nieren, von normaler Farbe, bieten makroskopisch keine Anzeichen einer vermehrten Fetteinlagerung. Mikroskopisch zeigt die Niere ein völlig normales Aussehen, die Leber einen die physiologischen Grenzen kaum übersteigenden Fettgehalt, das Herz vereinzelt Austritte von Blutkörperchen.

Ein für Phosphorvergiftung charakteristischer pathologisch-anatomischer Befund fehlt somit auch hier. Dagegen weisen die Durchfälle und die unzweideutigen Zeichen corrosiver Entzündung am Magendarmtractus auf eine Gastro-Enteritis hin, hervorgerufen durch die zu starke Konzentration der T.-P.-Lösung. Die vereinzelten capillären Blutungen im Herzmuskel lassen sich ungezwungen durch die kurz vor dem Tode eingetretenen Konvulsionen mit der hierdurch bedingten Blutdrucksteigerung erklären.

Um die Ätzwirkung möglichst abzuschwächen, wurde bei den drei folgenden Kaninchen die Substanz jedesmal in ca. 40 ccm Milch eingegeben, und zwar nur ein um den anderen Tag.

5. Tierversuch. Kaninchen ♀, 2300 g.

Tag	T.-P. g
1.	3,0
3.	3,0
5.	4,0

Außer etwas scheuem Wesen und verminderter Freßlust ist nichts zu beobachten. Nach weiteren 4 Tagen wird das Tier aus der Beobachtung entlassen und nach 3 bis 5 Wochen, ebenso wie die folgenden am Leben gebliebenen Tiere, zu neuen anderweitigen Versuchen benutzt.

6. Tierversuch. Kaninchen ♀, 2100 g.

Tag	T.-P. g
1.	3,0
3.	3,0
5.	4,0

An den ersten 4 Tagen zeigt das Kaninchen normale Freßlust. Am Morgen des 6. Tages sitzt es dyspnoisch atmend, ca. 40 mal in der Minute, im Käfig; es reagiert sehr lebhaft auf Insulte, der Puls ist 140, vor dem Maule befindet sich eitriges Sekret. Es wird an eine Pneumonie, bedingt durch die bei wiederholter Sondeneinführung nicht leicht vermeidbaren Insulte gedacht und das Tier in Ruhe gelassen. Am Morgen des 8. Tages liegt es tot im Käfig. Die Sektion bestätigt die Diagnose: Pneumonie. Die übrigen Organe werden als normal angesprochen.

7. Tierversuch. Kaninchen ♀, 1900 g.

Tag	T.-P. g
1.	3,0
3.	3,0
5.	3,0

Verhalten wie bei Versuch 5.

Die drei nächsten Kaninchen erhielten mit Natronlauge neutralisierte 5%ige T.-P. in physiologischer Kochsalzlösung.

8. Tierversuch. Kaninchen ♂, 3000 g.

Tag		T.-P. g
1.	subcutan	0,25
2.	"	0,25
3.	"	0,5
4.	"	0,5
5.	"	0,5
6.	"	0,5
7.	"	0,5
8.	intravenös	0,25
9.	"	0,5

Das Tier, das seinem Verhalten nach in seinem Wohlbefinden nicht gestört war, wird am 12. Tag für gesund erklärt und aus der Beobachtung entlassen.

9. Tierversuch. Kaninchen ♀, 3400 g.

Es ist gleichzeitig zu einem anderen Versuch benutzt, durch den das Ergebnis des nachstehenden aber nicht verdunkelt wird. Es frißt enorme Mengen.

Tag		T.-P.
		g
1.	mittags subcutan	1,0
2.	morgens „	1,0
2.	abends intravenös	0,25
3.	morgens „	0,5

Der Appetit hatte abgenommen. Am Mittag des 3. Tages wird das Kaninchen getötet. Der Sektionsbefund bietet makroskopisch kaum Veränderungen. Mikroskopisch ist der Fettgehalt der Leber als nicht sehr groß anzusehen. Im Myocard sind nur sehr vereinzelt kleinere Häufchen von Fetttröpfchen zu finden.

10. Tierversuch. Kaninchen ♀, 2850 g.

Tag		T.-P.
		g
1.	subcutan	0,5
2.	„	0,5
3.	„	0,5
4.	„	0,5
5.	„	1,0
6.	„	1,0
7.	„	1,0
8.	intravenös	0,5
9.	„	0,5

Das Tier ist nicht sehr munter und zeigt nur mäßigen Appetit. Da es aber am 12. Tage keinen deutlich kranken Eindruck macht, wird von weiteren Versuchen abgesehen.

11. Tierversuch. Hund ♂, 13900 g.

Tag	T.-P.
	g
1.	5,0
2.	7,5
3.	10,0

Der Hund sowie der folgende bekam die Substanz in Form von Kugeln, die mit Hackfleisch umwickelt waren. Eine Änderung im Befinden wird nicht beobachtet.

12. Tierversuch. Hund ♂, 21000 g.

Tag	T.-P.
	g
1.	11,0
2.	14,5
4.	13,0

Am 3. Tage sind die Faeces etwas breiiger wie gewöhnlich, sonst scheint das Wohlbefinden ungestört.

Durch diese Versuche ist mit Sicherheit festgestellt, daß die terpenolunterphosphorige Säure nicht

nur keine Phosphorwirkung mehr besitzt, sondern völlig ungiftig ist. Wenn einzelne Kaninchen auch nicht gerade durch ihr Wohlbefinden auffielen, so soll ihnen das in Betracht der mit der wiederholten Beibringung verbundenen Molesten nicht verdacht werden.

Die Harnbefunde bei den Kaninchen zeigten keine wesentlichen Abweichungen voneinander. Deshalb sind sie nicht einzeln angeführt, sondern sollen hier im Zusammenhang besprochen werden.

Der unveränderte Übergang der Substanz in den Harn, den Köhler annimmt, konnte schon von Busch nicht bestätigt werden. Dies ist auch kaum zu vermuten, ebensowenig wie das Auftreten von niederen Oxydationsprodukten des Phosphors und freier Terpene. Wie schnell Phosphite und Hypophosphite vom Tierkörper oxydiert werden, zeigen u. a. die Versuche von Ehrenfeld und Kulka[1]). Terpene und Derivate derselben konnten durch stichprobenweise ausgeführte Wasserdampfdestillationen nicht isoliert werden. Es stand vielmehr zu erwarten, daß der Phosphor der Verbindung zu anorganischem Phosphat verbrannt würde, während das abgespaltene Terpenderivat sich mit Glucuronsäure paarte.

Die Bildung von gepaarter Glucuronsäure wurde 1879 von Schmiedeberg und H. H. Meyer gefunden[2]). Die hier interessierenden Terpene und ihre Abkömmlinge gehen, soweit sie daraufhin untersucht sind, sämtlich diese Verbindungen ein[3]). Schmiedeberg[4]) sah im Hundeharn nach Terpentinöldarreichung gepaarte Glucuronsäure auftreten, ebenso E. Külz[5]). Fromm und Hildebrandt[6]) bestätigen dies im speziellen für Pinen und stellten als allgemeine Regel auf: Der Tierkörper verwandelt

---

[1]) R. Ehrenfeld und W. Kulka, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 43, 1909.

[2]) O. Schmiedeberg und H. H. Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3, 422, 1879.

[3]) Entnommen aus: „Der Harn", herausgegeben von C. Neuberg, Berlin 1911.

[4]) O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 14, 308, 1881.

[5]) E. Külz, Zeitschr. f. Biol. 27, 257, 1891.

[6]) E. Fromm und H. Hildebrandt, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33, 179, 1901.

die cyclischen Terpene durch Oxydation oder Hydratation in Monohydroxylderivate, falls das dargereichte Produkt nicht bereits eine Hydroxylgruppe enthält. Die so dargereichten oder entstandenen Hydroxylverbindungen werden an Glucuronsäure gepaart und so ausgeschieden.

Dieser Satz ist, wie in einer demnächst erscheinenden Abhandlung gezeigt werden soll, für die Phosphor-Terpentintherapie von Bedeutung.

Zwei verschiedene Terpineole: $C_{10}H_{17}OH$ Schmelzpunkt 32° und Schmelzpunkt 35° und das Terpinhydrat fand R. Matzel[1]) als Glucuronsäureverbindung wieder.

Die Untersuchungen auf derartige Körper — als Leitfaden diente „Der Harn", herausgegeben von C. Neuberg[2]) — wurden tagtäglich während der Beobachtungszeit bei jedem Versuchstiere ausgeführt. Als Nachweis sollte ihr optisches Verhalten — Linksdrehung, nach der Hydrolyse Rechtsdrehung —, ihr Reduktionsvermögen nach der Spaltung und die Farbenreaktionen mit Orcinsalzsäure und Naphthorersorcin gelten. Es sei bemerkt, daß Drehungen unter $\pm$ 0,3° nicht gerechnet wurden. In keinem Falle ist mir nun der Nachweis gepaarter oder freier Glucuronsäuren gelungen. Daß dies nicht etwa an der Technik der Untersuchung lag, zeigten später die Befunde an Tieren, die freies Pinen erhalten hatten.

Die täglich von den Kaninchen ausgeschiedene Urinmenge schwankte zwischen 0 und 250 ccm, im Mittel betrug sie etwa 150 ccm. Das spez. Gewicht schwankte zwischen 1,012 und 1,028; die Reaktion war meist ganz schwach sauer, das Aussehen trübe. Mit saurem Blei geklärt, veränderte er die Ebene des polarisierten Lichtes weder vor noch nach der Hydrolyse. Reduktionsvermögen konnte ebenso wie Zucker (durch Gären) und Eiweiß niemals nachgewiesen werden. Durch Säurezusatz trat auch beim Kochen keine Klärung ein. Kupfersulfat erzeugte in dem noch mit etwas Säure versetzten Urin eine schmutzig olivengrüne Fällung, die sich in Säure und beim Kochen nicht löste. Zur Kontrolle wurden Harnproben von verschiedenen normalen Kaninchen ebenso behandelt, dies Phänomen aber nicht beobachtet.

---

[1]) R. Matzel, Arch. internat. de Pharm. et de Thérap. **14**, 331.

[2]) C. Neuberg, Der Harn. Handb. Julius Springer, Berlin 1911.

Von den gleichzeitig im Versuch befindlichen Kaninchen wurde der Harn von mehreren Tagen gesammelt. Eine Portion wurde nach dem Ansäuern mit Kupfersulfatlösung versetzt, der Niederschlag nach dem Absetzenlassen und Auswaschen mit starker Salzsäure zerlegt. Die resultierenden unlöslichen amorphen Massen wurden dann in Chloroform aufgenommen, gereinigt und schließlich nach dem Eindunsten im Vakuum als braunes Harz erhalten. Die Phosphorbestimmung ergab:

0,3200 g Substanz gaben 0,1436 g $Mg_2P_2O_7$ = 12,49% P,
0,8432 g „ „ 0,2174 g $Mg_2P_2O_7$ = 12,53% P.

Zur Neutralisation dieser sauren Verbindung wurden verlangt an Alkali:

I. 16,5 ccm n/4-NaOH von 0,7552 g Substanz, demnach 5000 ccm n/4-NaOH von 229 g Substanz;

II. 13,8 ccm n/4-NaOH von 0,6376 g Substanz, demnach 5000 ccm n/4-NaOH von 237 g Substanz.

Eine zweite Portion der gesammelten Kaninchenurine wurde nach Ansäuern zum Sirup eingedunstet und dieser mit Chloroform ausgeschüttet. Nach Reinigung dieses Auszuges konnte ebenfalls ein braunes Harz isoliert werden, dessen Phosphorgehalt und Alkalibindungsvermögen mit dem des nach der Kupfermethode gewonnenen Produktes übereinstimmte[1]).

Der Harn von den beiden Hunden bot denselben Befund. Durch Kupferfällung und Chloroformausschüttelung ließ sich das braune Harz isolieren mit fast denselben Zahlen für Phosphorgehalt und Basizität wie beim Kaninchen. Es ließ sich beim 12. Tierversuch 5 Stunden nach der Verfütterung zuerst nachweisen. Die Ausbeuten waren entsprechend den gereichten Mengen natürlich nicht größer.

---

[1]) Es sei bemerkt, daß bei der Verarbeitung der gesammelten und länger aufbewahrten Kaninchenurine im Gegensatz zum normalen Harn eine merkwürdige Erscheinung auftrat. Nach dem Zusatz von Salzsäure und Erwärmen färbte sich die Flüssigkeit bordeauxrot. Durch Ausschütteln mit Äther wurde ein prachtvoll roter Farbstoff isoliert, der sich bei der chemischen und spektroskopischen Untersuchung (nach Rosin, Virchows Arch. **123**, 519, 1891) als Indigrot herausstellte. Meines Wissens ist beim Pflanzenfresser dergleichen noch nicht konstatiert worden und bin ich auch vor der Hand nicht imstande, eine Erklärung hierfür zu geben.

Ergebnisse.

1. Extra corpus bildet sich aus Terpentinöl (Pinen) und Phosphor eine Verbindung, die nicht terpentinphosphorige Säure, sondern besser

2. terpenolunterphosphorige Säure zu nennen ist.

3. Die analysierten Salze derselben: das Na-, Li-, Ba- und Pb-Salz sprechen für eine einbasische Säure.

4. Bei gelinder Oxydation im Reagensglas entsteht daraus Terpenolphosphorsäure.

5. Im Tierkörper erleidet die ungiftige terpenolunterphosphorige Säure eine ähnliche, wenn nicht identische Umwandlung wie bei der gelinden Oxydation im Reagensglas, d. h. sie wird als Terpenolphosphorsäure $P(OH)_2OC_{10}H_{17}O$ ausgeschieden.

6. Gleichzeitig kann in diesem Verhalten eine Stütze für die Behauptung erblickt werden, daß es sich bei dem Einwirkungsprodukt von Phosphor auf Terpen einmal um eine echte chemische Verbindung handelt, dann auch, daß der Phosphor in dieser Substanz fest an den Kohlenwasserstoff gebunden ist, denn sonst würde letzterer vom Organismus nach allen Erfahrungen in Glucuronsäurepaarung ausgeschieden.

Die bedeutsamste Frage, namentlich für den heilbringenden Arzt: läßt sich die Tatsache, daß durch Einwirkung von Terpen auf Phosphor bei Sauerstoffgegenwart eine ungiftige Substanz entsteht, therapeutisch bei der Phosphorvergiftung verwerten, und zwar gegen den bereits resorbierten Phosphor? — soll in einer weiteren Publikation, die bereits teilweise fertig ist, von mir besprochen werden.

Über ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Hippursäure im Harne.

Von

Theodor Hryntschak.

(Ausgeführt unter Leitung des a. ö. Prof. Dr. Otto v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 30. Juni 1912.)

I.

Bei den mannigfachen Interessen, die seit jeher mit der Bestimmung der Hippursäure verknüpft waren, nimmt es nicht wunder, daß die Zahl der vorliegenden quantitativen Methoden keine geringe ist; und doch hat keine derselben noch allgemeine Zustimmung gefunden.

Die Hippursäure wurde teils als solche, teils als Glykokoll bzw. dessen Stickstoff oder als Benzoesäure bestimmt. Damit sind die drei möglichen und auch tatsächlich eingeschlagenen Hauptwege gekennzeichnet, und von diesem Gesichtspunkt aus will ich, ohne auf Einzelheiten einzugehen, nur die wichtigsten Methoden kurz andeuten.

Bunge und Schmiedeberg[1]) waren die ersten, die eine quantitative Methode der Hippursäurebestimmung angaben; die aus dem Harne durch Essigäther extrahierte Hippursäure wurde nach Reinigung mit Tierkohle gewogen.

Henriques' und Sörensens[2]) Formoltitration der abgespaltenen Aminosäure ebenso wie Blumenthals[3]) Kjeldahldalisierung der Hippur-

---

[1]) G. Bunge und O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **6**, 237, 1877. — H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chemistry **7**, 108, 1910.

[2]) V. Henriques und S. P. L. Sörensen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **63**, 27; **64**, 132, 1909.

[3]) F. Blumenthal, Zeitschr. f. klin. Med. **40**, Heft 3 u. 4, 1900; Chem. Centralbl. **2**, 447, 1900.

säure (gegen welche Methode übrigens von Soetbeer[1]) Einwendungen erhoben worden sind), können der zweiten Gruppe beigezählt werden.

Der Übergang zur dritten Gruppe bildet eine Arbeit von Jaarsveld und Stockvis[2]), die die ausgeschüttelte Hippursäure hydrolysierten, um sie als Benzoesäure zur Wägung zu bringen. Endlich seien noch als Repräsentanten dieser letzten Art in chronologischer Reihenfolge die Methoden von R. Cohn[3]), Th. Pfeiffer, C. Bloch, R. Riecke[4]) und W. Wiechowski[5]) genannt. Die Genauigkeit der den beiden zuerst angeführten Gruppen angehörigen Methoden wird durch die Zersetzlichkeit der Hippursäure hochgradig beeinträchtigt, insofern diese nicht nur im Harne selbst, sondern auch bei den zu ihrer Isolierung nötigen Manipulationen, wie z. B. dem Eindampfen des Harnes bei schwach alkalischer Reaktion, mit großer Leichtigkeit einer Spaltung anheimfällt. Darauf sind auch die widersprechenden Angaben zurückzuführen, die sich in der Literatur über das Vorkommen ungepaarter Benzoesäure im Harne finden. Anders die Bestimmung als Benzoesäure, da diese neben ihrer Resistenz den notwendigen chemischen Umsetzungen gegenüber auch noch den Vorteil einer ungemein leichten Löslichkeit in ätherischen Flüssigkeiten darbietet.

Habe ich damit die mir bekannten älteren Verfahren nur kurz angedeutet, so möchte ich doch zwei, kürzlich erschienene Methoden etwas genauer besprechen; war doch ihr Erscheinen der unmittelbare Anlaß zur Publikation vorliegender Methode, die, im Laufe einer Stoffwechseluntersuchung ausgearbeitet, erst mit dieser gleichzeitig mitgeteilt werden sollte.

In der einen von H. Steenbock[6]) verfaßten Arbeit wird der Harn (nach Spaltung der Hippursäure) in alkalischer Lösung mit Wasserstoffsuperoxyd bis zu einer strohgelben Farbe oxydiert (ein vollständiges Entfärben ist dabei nicht zu erreichen); nach Säurezusatz werden die Phenole mit Bromwasser ausgefällt und nun wird ein aliquoter Teil nach Filtration mit Äther ausgeschüttelt. Die nach Verjagen des Äthers zurückbleibende Benzoesäure wird sublimiert und in einem zu

---

[1]) F. Soetbeer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 536, 1902.

[2]) G. J. Jaarsveld und B. J. Stockvis, Arch. f. experim. Pharmakol. 10, 269, 271, 1879.

[3]) R. Cohn, Festschr. f. Jaffé, Braunschweig 1901, S. 327.

[4]) Th. Pfeiffer, C. Bloch, R. Riecke, Mitteil. d. landwirtsch. Inst. d. Univ. Breslau 2, 273, 1902.

[5]) W. Wiechowski, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 262, 1906.

[6]) H. Steenbock, Journ. of Biolog. Chemistry 11, 201, 1912.

diesem Zwecke besonders angefertigten Glasapparate aufgefangen und gewogen.

In der zweiten von O. Folin[1]) herrührenden Arbeit, in der zunächst von der Spaltbarkeit der Hippursäure und ihrer hochgradigen Zersetzlichkeit in schwach alkalischen Lösungen die Rede ist, wird folgender Vorgang beschrieben: Der alkalische Harn wird am Wasserbade eingedampft, mit einer geringen Menge Wasser aufgenommen, die gleiche Menge konzentrierter Salpetersäure zugesetzt und vier Stunden unter Rückflußkühlung gekocht. Durch das Kochen wird bei der nun folgenden Chloroformausschüttlung die Emulsionsbildung vermieden. Nach einmaligem Waschen der Chloroformlösung mit einer salzsäurehaltigen konzentrierten Salzlösung wird die Benzoesäure mit alkoholischer Natronlauge titriert.

Wird die Brauchbarkeit der ersten Methode nur durch zwei Parallelversuche ohne Hippursäurezusatz und einen solchen mit Zusatz erwiesen, so fehlen bei der zweiten Methode die Versuche mit zugesetzter Hippursäure leider vollständig, und können wir aus acht Parallelversuchen zwar eine relative Genauigkeit, nicht aber eine absolute Richtigkeit derselben ersehen. Bei der erstangeführten Methode soll die Oxydation die färbenden Substanzen des Harnes zerstören und ihr Übergehen in den Äther verhindern — eine Aufgabe, die nicht vollständig erfüllt wird. Hingegen scheint mir die Reinigung der zu wägenden Benzoesäure durch Sublimation ein recht glücklicher Gedanke zu sein. Die bei der anderen Methode erforderliche Titration der Benzoesäure in Chloroform dürfte wohl in minder geübten Händen als denen Otto Folins schwerlich ebenso gute Resultate liefern; ist doch die quantitative Trennung des Chloroforms von den sauren Flüssigkeiten keine ganz leicht durchzuführende Aufgabe und ergeben andererseits auch schon kleine Mengen der sauren Flüssigkeit, dem Chloroform beigemengt, bei der Titration erhebliche Fehler. Eine größere Reihe von praktischen Erprobungen allein wäre imstande, die Frage hinsichtlich der Genauigkeit beider Methoden eindeutig zu entscheiden.

Wenn ich nun, statt eine solche Nachprüfung vorzunehmen,

---

[1]) O. Folin und F. F. Flanders, ebenda S. 257.

eine neue Methode veröffentliche, so geschieht dies einerseits deswegen, weil mein Verfahren bei Erscheinen der letzterwähnten Publikationen schon ausgearbeitet vorlag, andererseits weil mir dasselbe erheblich einfacher und bequemer durchführbar erscheint; wird doch dabei der Harn durch eine einfache Manipulation in eine wasserhelle Flüssigkeit umgewandelt, aus der dann die Benzoesäure leicht isoliert werden kann. Die Publikation meines Verfahrens dürfte daher hinlänglich gerechtfertigt erscheinen.

II.

Der von mir eingeschlagene Vorgang ist folgender: 100 ccm Harn werden mit ca. 10 g NaOH in einem (1 l fassenden) Kjeldahlkolben unter Rückflußkühlung $2^1/_2$ Stunden über freier Flamme gekocht. Hierauf wird der Kühler gelüftet, Kaliumpermanganat in Substanz in kleinen Dosen unter zeitweiligem Umschütteln hinzugefügt und noch 5 bis 7 Minuten gelinde gekocht. Für menschlichen Harn genügen 10 g; jedenfalls muß am Ende der Operation die Flüssigkeit eine rote oder violette, von unzersetztem Kaliumpermanganat herrührende Farbe aufweisen. Nach Erkalten werden einige Eisstückchen und ungefähr 15 g Natriumbisulfit in Substanz zugegeben. Der Kühler wird wieder aufgesetzt, der Kolben ev. auch von außen durch Einstellen in kaltes Wasser gekühlt, und nunmehr durch den Kühler $50^0/_0$ige Schwefelsäure portionenweise zugeschüttet, bis aller Braunstein in Lösung gegangen ist. Zweckmäßig ist es, den Kolben jetzt einige Stunden stehen zu lassen. Die wasserhelle Flüssigkeit wird dann in einen Schütteltrichter übertragen und 5 mal mit Äther ausgeschüttelt. Der Kühler und der Kolben werden nicht mit Wasser, sondern ebenfalls mit Äther nachgespült. Nach Verjagen des Äthers wird die Benzoesäure mit Chloroform aufgenommen und nach Entfernung desselben gewogen. Durch Multiplikation des Resultates mit 1,468 ergibt sich die Menge der Hippursäure.

Wegen der bei diesen Manipulationen leicht vorkommenden Verluste will ich den von mir schließlich dabei eingehaltenen Vorgang etwas genauer besprechen. Die ätherische Lösung wird in einem Becherglase aufgefangen, mit geglühtem Natriumsulfat getrocknet und in eine runde Krystallisierschale gebracht; nicht zu vergessen ist ein genaues Nachspülen des Becherglases. Die letzten Portionen des Äthers werden durch ein kleines Filter, das vom Rande des Trichters mindestens $^1/_2$ cm ab-

stehen muß, von den immer mitgerissenen Teilchen des Natriumsulfats getrennt. Nach Verdunsten oder Verjagen des Äthers wird die Benzoesäure mit kleinen Mengen Chloroforms (das zweimal mit Wasser gewaschen und hernach über Kupfersulfat getrocknet worden war) aufgenommen und durch das gleiche Filter in ein Wägegläschen filtriert. Zur Nachspülung des Filters, die sehr gründlich geschehen muß, bedient man sich zweckmäßigerweise eines Tropffläschchens, um allzu große Chloroformmengen zu vermeiden. Da bei einfachem Stehenlassen an der Luft das Chloroform zu langsam verdunsten würde, wird das Gläschen unter eine mit Chlorcalcium beschickte Glasglocke gebracht, durch die man nun mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe einen durch Schwefelsäure getrockneten lebhaften Luftstrom passieren läßt. Dieser einfache Apparat ist auch zum schnellen Verjagen des Äthers verwendbar, wobei eine Kondensation von Wasser unbedingt vermieden wird. Zum Wägen benützte ich breite, oben verschmälerte Wägegläschen, die bei geringem Gewichte eine dem Verdunsten des Chloroforms günstige große Bodenfläche besitzen. Auch das „Hinaufkriechen" der Substanz wird so vermieden. Nach Schwinden des Chloroformgeruchs ist die Gewichtskonstanz noch nicht vollständig erreicht und ist dazu ein zweistündiges Stehen in einem mit Chlorcalcium und Wachs- oder Paraffinstückchen beschickten Exsiccator nötig, worauf dann die rein weiße oder etwas gelblich gefärbte Benzoesäure gewogen werden kann.

Die Spaltbarkeit der Hippursäure durch Kochen mit starker Lauge ist genügend studiert worden; zum erstenmal von Jaarsveld und Stockvis angewendet, wurde sie auch von H. Steenbock nachgeprüft und als quantitativ sichergestellt. Eigene Versuche meinerseits bestätigten diesen Befund.

Durch Oxydation mit Permanganat in stark alkalischer Lösung wird Benzoesäure nicht angegriffen; in zwei dazu angestellten Versuchen, in denen Benzoesäure 25 Minuten unter diesen Bedingungen gekocht wurde, konnte eine quantitative Ausbeute erzielt werden.

Benzoesäure

Zugesetzt	Gewonnen	%
0,4774	0,4690	98,24
0,4090	0,4015	98,17

Ebenso ergab eine Schmelzpunktbestimmnng nach $^1/_2$stündiger Oxydation den normalen Schmelzpunkt von 121,5°, der bei den in Betracht kommenden Oxysäuren wesentlich höher liegt. Was nun die Menge des zu verwendenden Kaliumpermanganats betrifft, so hängt diese hauptsächlich von der Art des Harnes ab; während beim menschlichen Harne 8 bis 10, bei Harn von Hunden 12 g genügten, waren beim Pferdeharn 22 g nötig, um eine vollständige Entfärbung herbeizuführen; daß die Farbe am Ende des Kochens als Indicator einer genügenden Oxydation verwendbar ist, wurde schon erwähnt. Die Entfärbung zu einer wasserhellen Flüssigkeit ist mir in allen Fällen ge-

lungen (auch bei einer Reihe von Versuchen im Laufe einer Stoffwechselarbeit, wobei mit Faeces vermengter Hundeharn zur Verarbeitung gelangte, der filtriert eine beinahe schwarze Farbe zeigte).

Die Menge des Harns kann auch größer als 100 ccm sein; jedoch wird sich dann nach Alkalisierung ein Einengen auf 100 oder bei lichter Färbung sogar auf 50 ccm empfehlen, da dann weniger NaOH bzw. zu dessen Neutralisation weniger Schwefelsäure notwendig ist; die zum Ausschütteln gelangende Flüssigkeit braucht 250 ccm nicht zu übersteigen.

Besondere Sorgfalt ist ferner auf den Vorgang des Ansäuerns zu verwenden; läßt sich doch dabei eine Temperaturerhöhung nicht ganz vermeiden und können so Spuren von der bei Erwärmung ziemlich leicht flüchtigen Benzoesäure verloren gehen.

Mit der schließlich zur Wägung gebrachten Benzoesäure angestellte Schmelzpunktbestimmungen ergaben die Werte von 118 bis 121,5°[1]).

III.

Folgende Tabellen mögen ein Bild der mit der beschriebenen Methode erreichbaren Resultate geben.

Als Zusatz wurde Mercksche Hippursäure verwendet, die nach 2maligem Umkrystallisieren den richtigen Schmelzpunkt von 187,5° ergab; der für die Versuche benützte frische Harn wurde alkalisch gemacht und unter Xylol aufbewahrt.

I. Menschlicher Harn.

Harn ccm	Zugesetzte Benzoesäure	Zugesetzte Hippursäure[2])	Erhaltene Benzoesäure	%
100	—	—	0,0640	Mittel 0,0621
100	—	—	0,0634	
100	—	—	0,0588	
50	0,1687	—	0,1995	99,89
50	—	0,4050 (0,2760)	0,3011	98,08
50	—	0,3599 (0,2453)	0,2632	95,26

[1]) Ein Hinzufügen von Natriumchlorid oder -sulfat in der Absicht, die Unlöslichkeit der Benzoesäure in der sauren Flüssigkeit zu erhöhen und sie dadurch vollständiger ausschüttelbar zu machen, ist nicht angezeigt; denn die Konzentration der Lösung ist durch die im Verlaufe der Prozedur hinzugefügten Substanzen schon eine so große, daß eine weitere Erhöhung der Konzentration nur zu Emulsionsbildung Anlaß geben könnte.

[2]) Die eingeklammerten Werte geben die der Hippursäure entsprechende Menge Benzoesäure an.

II. Menschlicher Harn.

Harn ccm	Zugesetzte Benzoesäure	Zugesetzte Hippursäure[1])	Erhaltene Benzoesäure	%
100	—	—	0,0566	Mittel 0,0545
100	—	—	0,0523	
50	0,2337	—	0,2520	96,59
100	—	0,2081 (0,1418)	0,1890	96,77

III. Menschlicher Harn.

Harn ccm	Zugesetzte Benzoesäure	Zugesetzte Hippursäure[1])	Erhaltene Benzoesäure	%
100	—	—	0,0527	Mittel 0,0537
100	—	—	0,0547	
100	0,1863	—	0,2344	97,67
50	0,2700	—	0,2892	97,42
100	—	0,4691 (0,3197)	0,3588	96,09
50	—	0,3453 (0,2353)	0,2562	97,71
100	—	0,1767 (0,1204)	0,1715	98,49
100	—	0,2512 (0,1712)	0,2174	96,66

Hundeharn.

Harn ccm	Zugesetzte Hippursäure[1])	Erhaltene Benzoesäure	%
100	—	0,0091	
100	0,1101 (0,0733)	0,0807	97,93

Pferdeharn.

Harn ccm	Zugesetzte Hippursäure[1])	Erhaltene Benzoesäure	%
100	—	1,0172	Mittel 1,0067
100	—	0,9962	
50	0,3328 (0,2268)	0,7219	98,87

Festhaltend an der eingangs erwähnten Einteilung ist diese Methode der dritten Gruppe zuzurechnen, bei der die Hippursäure vor ihrer Isolierung aus dem Harne hydrolysiert wird; sie besitzt auch dementsprechend die Vorteile und Nachteile dieses Vorganges.

[1]) Die eingeklammerten Werte geben die der Hippursäure entsprechende Menge Benzoesäure an.

Letztere insofern, als die ungepaarte oder an andere Komplexe als Glykokoll gepaart vorkommende Benzoesäure als Hippursäure berechnet wird; doch ist diese Fehlerquelle leicht zu umgehen. Denn die freie Benzoesäure (die nach neueren Untersuchungen überhaupt nicht im Harne vorzukommen scheint) kann durch eine der Hydrolyse vorausgehende Petrolätherausschüttelung isoliert und diese Fraktion nach Alkalisierung und Verjagen des Petroläthers als eigene Bestimmung oxydiert und in üblicher Weise weiterbehandelt werden.

Daß der Harn zum Zwecke der gesonderten Bestimmung von Benzoesäure unter besonderen die Zersetzung der Hippursäure verhindernden Vorsichtsmaßregeln aufgefangen werden muß, ist selbstverständlich.

Die an andere Komplexe als Glykokoll gebundene Benzoesäure wird freilich als Hippursäure berechnet; doch muß man sich vergegenwärtigen, daß die dabei hauptsächlich in Betracht kommende von Magnus-Levy[1]) entdeckte Benzoyl-Glucuronsäure nach Dakin[2]) nur in quantitativ zu vernachlässigender Menge vorkommt.

Ebenfalls in geringen Mengen im Herbivorenharne, zuweilen auch im Menschenharne kommt Phenacetursäure vor.

Als Fehlerquellen könnten vielleicht noch unter pathologischen Verhältnissen die Oxyphenylessigsäure und die Oxyphenylpropionsäure in Betracht kommen. Das Verhalten derselben bei der Permanganatoxydation würde eine besondere Feststellung erfordern; doch ist die im Harne vorkommende Menge dieser und ähnlicher Produkte im allgemeinen so gering, daß eine dadurch hervorgerufene Trübung der Versuchsresultate nur ganz ausnahmsweise zu befürchten sein dürfte.

---

[1]) A. Magnus-Levy, diese Zeitschr. 6, 502, 1907.

[2]) H. D. Dakin, Journ. of Biolog. Chem. 7, 103, 1910.

Über einige Versuche zum Abbau der Cholsäure.

III. Mitteilung.

Über das Ozonaufnahmsvermögen einiger Cholsäurederivate.

Von

Otto von Fürth und Hiromu Ishihara (Tokio).

(Eingegangen am 30. Juni 1912.)

Gelegentlich einer gemeinsam mit E. Lenk ausgeführten Untersuchung[1]) hat der eine von uns über die Eigenschaften der bei der trockenen Destillation der Cholsäure auftretenden Produkte Aufschluß zu erlangen sich bemüht. Der aus dem öligen Destillationsprodukte durch überhitzten Wasserdampf isolierbare flüchtige Anteil des Destillationsproduktes hat sich als ein leicht verharzender Kohlenwasserstoff erwiesen, der aus einem Verbande von 12 bis 17 Kohlenstoffatomen besteht. Die Richtigkeit der von Pregl für die Konstitution der Cholsäure entwickelten Anschauungen vorausgesetzt, schien sich das analytische Verhalten dieses Kohlenwasserstoffes am ungezwungensten durch die Annahme zu erklären, daß demselben die Formel $C_{17}H_{24}$ oder $C_{17}H_{22}$ zukommen dürfte, ohne daß jedoch die Annahme eines kleineren Moleküles (z. B. der Formel $C_{12}H_{16}$ oder $C_{12}H_{18}$ entsprechend) mit Sicherheit hätte ausgeschlossen werden können. Die Berechnung der Molekularrefraktion deutete auf das Vorhandensein von drei doppelten Bindungen hin. Aus der Beobachtung der Halogenaufnahme (welche annähernd der Substitution von nur einem Atom Halogen pro Molekül entsprach) wurde erschlossen, daß die doppelten Bindungen nicht etwa aliphatischer Natur, viel-

---

[1]) O. v. Fürth und E. Lenk, Über einige Versuche zum Abbaue der Cholsäure. II. Mitteilung: Über Destillationsprodukte aus Cholsäure und Biliansäure. Diese Zeitschr. 26, 406, 1910.

mehr in einem zyklischen Komplexe enthaltene maskierte Bindungen seien.

Nun bietet bekanntlich die Anlagerung von Ozon an derartige maskierte Bindungen die Möglichkeit, die Existenz derselben sicherzustellen. Wir legten uns daher die Aufgabe vor, zu ermitteln, wie viele Ozonmoleküle das flüchtige Destillationsprodukt der Cholsäure und ihrer Derivate aufzunehmen vermag und ob man etwa von dem Abbau eines derartigen Ozonids irgendwelche Aufschlüsse über die Natur der in der Cholsäure enthaltenen Ringsysteme erwarten dürfe.

Im Anschluß an diese Untersuchungen haben wir auch das Verhalten des Ozons gegenüber dem Dehydrocholon Pregls[1]) untersucht, einer Substanz, die auftritt, wenn Cholsäure, in Eisessig gelöst, der Einwirkung heißer konzentrierter Schwefelsäure unterworfen wird und die (ihre Zusammensetzung entspricht der Formel $C_{24}H_{28}O$ oder $C_{23}H_{28}O$) 12 Wasserstoffatome weniger enthält als die Cholsäure, daher von vornherein das Vorhandensein maskierter doppelter Bindungen erwarten läßt.

Als Vorarbeit für unsere Untersuchungen haben wir nur eine Arbeit von Langheld[2]) aus dem Laboratorium von Harries in der Literatur ausfindig gemacht.

Derselbe erhielt durch Behandlung von (in Chloroform aufgeschwemmter) Cholsäure mit Ozon ein Ozonid von der Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_9$. Da Cholsäure sich gegenüber Permanganat und Brom wie ein gesättigter Körper verhält, beweist diese Ozonidbildung das Vorhandensein einer versteckten Doppelbindung. Die Spaltung des Ozonids mit Wasser erwies sich als eine äußerst unvollständige, was an das von Harries beobachtete analoge Verhalten hydroaromatischer Körper erinnert.

1. Ozonaufnahmevermögen des öligen Destillationsproduktes aus Cholsäure. Als Ausgangsmaterial für unsere Untersuchungen diente reine Cholsäure, zu deren Darstellung sich uns die Methode von Pregl und Buchtala[3])

---

[1]) F. Pregl, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 166, 1905.

[2]) K. Langheld, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, I, 1023, 1908.

[3]) F. Pregl und H. Buchtala, Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 198, 1911.

vortrefflich bewährt hat. Nach mehrmaligem Umkrystallisieren gelang es mit Hilfe desselben stets zu einem reinen einheitlichen Präparate von dem richtigen Schmelzpunkte zu gelangen.

Zur Darstellung des Ozonids aus dem Destillationsprodukte der Cholsäure hat sich uns nach mannigfachen Vorversuchen, die ich hier übergehe, folgender Weg als gangbar erwiesen:

50 g des reinen Cholsäurealkoholates wurden in der bei früherer Gelegenheit beschriebenen Weise[1]) der trockenen Destillation unterworfen. Das zuerst übergehende wachsartige Destillationsprodukt wurde abgetrennt und gesondert untersucht. Das resultierende zähflüssige, grünfluorescierende Öl (Ausbeute ca. 25 g) wurde nunmehr in dem doppelten Volumen Chloroform gelöst und die Lösung direkt der Ozoneinwirkung unterworfen.

Das für unsere Versuche erforderliche Ozon wurde in der Weise gewonnen, daß getrockneter Sauerstoff durch eine Reihe von 7 Siemensschen Ozonisatoren durchgeleitet und darin den Entladungen von (mit Hilfe eines Transformators auf 8000 Volt gespannter) Elektrizität ausgesetzt wurde[2]). Der Prozentgehalt des so gewonnenen ozonhaltigen Gasgemenges in bezug auf Ozon betrug 5 bis 6%.

Die Chloroformlösung des durch trockene Destillation aus Cholsäure gewonnenen Öles zeigte nun nach entsprechend lange Zeit hindurch fortgesetzter Ozoneinleitung eine weitgehende Aufhellung, derart, daß die dunkle Färbung und Fluorescenz desselben verschwunden war und einer hell weingelben Färbung Platz gemacht hatte.

Es wurde nunmehr die Ozoneinleitung noch einige Stunden lang fortgesetzt, die Lösung sodann in eine flache Schale übertragen und das Chloroform bei Zimmertemperatur durch Überleiten eines lebhaften Luftstromes (in einem Faustschen Abdampfapparate) vertrieben. Der gelbe harzige Rückstand wurde nunmehr in Eisessig bei Zimmertemperatur gelöst, die Lösung

[1]) O. v. Fürth und E. Lenk, l. c., S. 408.

[2]) Eine Beschreibung der im hiesigen physiologischen Institute beim Arbeiten mit Ozon zur Verwendung gelangten Apparate und Meßvorrichtungen findet sich in einer Arbeit von H. Brach: Chemikerzeitung 1912.

durch Eingießen in Wasser gefällt, der Niederschlag abfiltriert, mit Wasser gewaschen, im Vakuum getrocknet, der spröde Rückstand fein gepulvert, neuerlich sorgfältig mit Wasser gewaschen, schließlich im Vakuum über Schwefelsäure zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Orientierende Analysen ergaben

			Mittel
C	67,79 %	67,67 %	67,73 %
H	7,94 „	8,03 „	7,99 „
O			24,28 „
			100,00 %

woraus sich, unter Anlehnung an Pregls Hypothese und unter der vorläufigen Annahme (s. o.), daß ein Komplex von 17 Kohlenstoffen vorliegt, eine Relation $C_{17}H_{24.0}O_{4.8}$ ableitet.

Von der Annahme geleitet, daß die erzielte Ozonanlagerung noch keine maximale gewesen sei, haben wir das Präparat wieder in Chloroform gelöst und die Lösung einen Tag lang einer neuerlichen Ozonbehandlung unterworfen. Der weitere Vorgang war wie oben. Das so gewonnene Präparat, ein sprödes gelbes Pulver, das in Alkohol und Chloroform leicht, schwerer in Äther, noch schwerer in Petroläther löslich und in Wasser unlöslich war, wurde der Analyse unterworfen:

a) 0,1523 g Substanz gaben 0,3362 g CO_2 und 0,1088 g H_2O
60,21 % C 7,94 % H

b) 0,1520 g Substanz gaben 0,3388 g CO_2 und 0,1016 g H_2O
60,79 % C 7,43 % H

			Mittel	Berechnet für $C_{17}H_{24}O_7$	
C	60,21 %	60,79 %	60,50 %	C	60,00 %
H	7,94 „	7,43 „	7,68 „	H	7,05 „
O			31,82 „	O	32,95 „
			100,00 %		100,00 %

2. Ozonaufnahmevermögen eines Destillationsproduktes aus Biliansäure. Um nun festzustellen, inwieweit die bei dem vorigen Versuche erzielte Ozonaufnahme als eine konstante gelten dürfe, wurde nunmehr der Versuch mit der Abänderung wiederholt, daß wir statt von Cholsäure von reiner Biliansäure ausgingen. Dieselbe war nach dem Vorgange von Lassar-Cohn[1]) dargestellt, aus Alkohol und Eisessig umkrystallisiert und so in Form schneeweißer Krystalle vom Sp. 268 bis 273° gewonnen worden. Dieses Präparat wurde

[1]) Lassar-Cohn, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 683.

nunmehr nicht direkt der trockenen Destillation, vielmehr zunächst erst noch der Kalischmelze bei 220° unterworfen, die Schmelze sodann in Wasser gelöst, die Lösung mit Schwefelsäure gefällt[1]), der körnige Niederschlag gewaschen, getrocknet und nunmehr trocken destilliert, das zähe Destillat in Chloroform gelöst und die fluorescierende Lösung ozonisiert. Der weitere Vorgang war genau wie im ersten Versuche.

Die Analyse des im Vakuum zur Gewichtskonstanz getrockneten spröden gelben Ozonids ergab:

a) 0,1588 g Substanz gaben 0,3528 g CO_2 und 0,1030 g H_2O
60,58% C 7,18% H

b) 0,1528 g Substanz gaben 0,3403 g CO_2 und 0,1006 g H_2O
60,73% C 7,26% H

			Mittel	Berechnet für $C_{17}H_{24}O_7$	
C	60,58%	60,73%	60,65%	C	60,00%
H	7,18 „	7,26 „	7,22 „	H	7,05 „
O			32,13 „	O	32,95 „
			100,00%		100,00%

Die analytische Übereinstimmung der Ozonide der beiden Destillationsprodukte, von denen also das eine aus Cholsäure, das andere aber aus einem Kalischmelzprodukte der Biliansäure gewonnen worden war, ist eine so weitgehende, daß eine Identität derselben angenommen werden kann. In beiden Fällen hatte, je 17 Kohlenstoffatomen entsprechend, eine Anlagerung von 7 Sauerstoffatomen sich vollzogen, die (etwa im Sinne der Gleichung $C_{17}H_{24} + O_3 + O_4 = C_{17}H_{24}O_7$) derart gedeutet werden könnte, daß an einer doppelten Bindung ein Ozonid

$$\begin{matrix} \diagdown C—O \diagdown \\ \mid \quad\quad >O \\ \diagup C—O \diagup \end{matrix}$$

an einer anderen aber ein Perozonid

$$\begin{matrix} \diagdown C—O—O \\ \mid \quad\quad\quad \mid \\ \diagup C—O—O \end{matrix}$$

zustande gekommen ist, wie denn auch Langheld bei Ozoneinwirkung auf Cholsäure ein Perozonid zustande kommen sah ($C_{24}H_{40}O_5 + O_4 = C_{24}H_{40}O_9$).

3. Ozonaufnahmevermögen des wachsartigen Destillationsproduktes aus Cholsäure. 4 g der wachsartigen (bei der trockenen Destillation von Cholsäure vor dem öligen

[1]) Vgl. O. v. Fürth und E. Jerusalem, diese Zeitschr. 20, 375.

Hauptprodukte übergehenden) Substanz, die bei der Verarbeitung von 300 g reiner Cholsäure allmählich abgetrennt und gesammelt worden war, wurden in Chloroform gelöst und der Ozoneinwirkung unterworfen. Nach einigen Stunden war Entfärbung eingetreten und die ursprünglich dunkel gefärbte Flüssigkeit hatte eine hellgelbe Färbung angenommen. Nach Abdunsten des Chloroforms wurde der Rückstand in Eisessig in der Kälte gelöst, die Lösung durch Eingießen in wässerige Kochsalzlösung gefällt, die teigige Fällung gut mit Wasser gewaschen und im Vakuum getrocknet. Die Ozonidausbeute betrug 1,8 g.

Die Analyse ergab:

a) 0,1520 g Substanz gaben 0,3471 g CO_2 und 0,1123 g H_2O
62,31 % C 8,22 % H

b) 0,1450 g Substanz gaben 0,3276 g CO_2 und 0,1056 g H_2O
61,66 % C 8,07 % H

			Mittel	Berechnet für $C_{17}H_{28}O_6$	
C	62,31 %	61,66 %	61,98 %	C	62,19 %
H	8,22 „	8,07 „	8,15 „	H	8,54 „
O			29,87 „	O	29,27 „
			100,00 %		100,00 %

Die Analyse der wachsartigen Destillationsprodukte hatte seinerzeit[1]) dazu geführt, dieselben als labile Vorstufen der (die Hauptmenge der Destillationsprodukte bildenden) Kohlenwasserstoffe anzusehen, deren Zusammensetzung den Formeln $C_{17}H_{28}O_2$ bzw. $C_{17}H_{24}O_2$ oder aber analogen Ausdrücken mit 18 oder 16 Kohlenstoffen entspricht. Auf Grund der vorliegenden Ozonidanalysen würde sich ungezwungener Weise etwa folgender Zusammenhang als wahrscheinlich ergeben:

$$\underset{\text{Kohlenwasserstoff}}{C_{17}H_{24}} + 2\,H_2O = \underset{\text{wachsartiges Produkt}}{C_{17}H_{28}O_2}$$

$$C_{17}H_{28}O_2 + O_4 = \underset{\text{Ozonid}}{C_{17}H_{28}O_6}$$

Es war sonach in dem wachsartigen Produkte offenbar nur eine doppelte Bindung unter Perozonidbildung gelöst worden.

4. Versuche zur Spaltung der Ozonide. Beim Arbeiten mit den beschriebenen Produkten haben sich zwei Eigenschaften derselben besonders bemerkbar gemacht: Einerseits ihre große Neigung, in dunkelgefärbte verharzte Produkte überzugehen, andererseits aber ihre Widerstandsfähigkeit spal-

[1]) O. v. Fürth und E. Lenk, l. c. S. 419 bis 420.

tenden Eingriffen gegenüber, die dieselben mit den Ozoniden hydroaromatischer Verbindungen teilen und die sie von den Ozoniden aliphatischer ungesättigter Substanzen in charakteristischer Weise unterscheidet.

Werden die vorbeschriebenen Ozonide andauernd auf 100 bis 110° erwärmt, so geben dieselben einen Teil ihres Sauerstoffs unter Bräunung ab. Aus zwei verschiedenen in dieser Art behandelten Cholsäureozonidpräparaten resultierten so schließlich Produkte von annähernd übereinstimmender Zusammensetzung.

	I		II		Mittel
C	69,86 %	69,40 %	69,00 %	69,24 %	69,32 %
H	6,42 „	6,19 „	5,93 „	5,93 „	6,11 „
O					24,57 „
					100,00 %

woraus sich eine Relation

$$C_{17}H_{24}O_7 - 2^1/_2\, H_2O = C_{17}H_{19}O_{4,5}$$

ber.	
C	69,16 %
H	6,44 „
O	24,40 „
	100,00 %

ableiten läßt. Es scheint sich demnach um einen Spaltungsvorgang unter Austritt von 2 bis 3 Molekülen Wassers zu handeln, wobei nebenbei bemerkt die den unveränderten Ozoniden eigentümlichen Reaktionen des „aktiven Sauerstoffes" (s. u.) gänzlich verloren gehen.

Die Ozonide besitzen sauren Charakter. So ergab z. B. 0,5000 g des vorbeschriebenen Ozonids aus der wachsartigen Substanz, in neutralem Alkohol gelöst und gegen Phenolphthalein titriert, eine Acidität entsprechend 14,5 ccm $^n/_{10}$-NaOH, was 4,95 % sauren Hydroxyls entspricht. (Die oben abgeleitete Formel $C_{17}H_{28}O_6$ erfordert für ein saures Hydroxyl 5,18 %.) Bei kurzdauerndem Erwärmen verschwand die Rotfärbung; wurde nunmehr der Alkalizusatz fortgesetzt, bis dieselbe bei kurzdauerndem Erwärmen persistierte, so entsprach die gefundene Acidität 7,10 % sauren Hydroxyls. Als nunmehr ein Überschuß von Alkali zugesetzt, über Nacht stehen gelassen und zurücktitriert wurde, resultierte schließlich eine Acidität, entsprechend 8,94 % sauren Hydroxyls. Die ursprüngliche Acidität hatte also allmählich unter der Einwirkung des Alkalis eine Verdoppelung erfahren.

Doch gelang es weder durch Kochen mit Wasser noch mit Alkali eine glatte Lösung und Aufspaltung zu erzielen, wie dies z. B. bei aliphatischen Ozoniden in der Regel möglich ist; stets kommt es zur Bildung in Wasser schwer löslicher, nicht unzersetzt flüchtiger, verharzter Produkte von saurem Charakter.

Dieselben entstehen auch stets, wenn die ätherische Lösung des Ozonisationsproduktes aus Cholsäure mit wässeriger Natronlauge aus-

geschüttelt wird. Dabei geht der Hauptanteil des Produktes aus dem Äther in die Lauge über, die dabei eine dunkle Färbung annimmt, die sich weder durch nachfolgende Oxydation noch durch Reduktion vollkommen beseitigen läßt. Das resultierende saure Produkt gibt Schwermetallfällungen von inkonstanter Zusammensetzung. Versuche, von demselben aus durch Überführung in ein Chininsalz, Brucinsalz oder einen Methylester (Methylierung mit Dimethylsulfat) zu krystallisierbaren Produkten zu gelangen, blieben resultatlos.

Ebensowenig führten Oxydationsversuche (mit Chromsäure in Eisessig, Ammonpersulfat, Permanganat und Bromlauge) und Reduktionsversuche (mit metallischem Natrium in alkoholischer Lösung) zu definierbaren Produkten.

Die Ozonide geben Reaktionen des „aktiven Sauerstoffes“. Wird z. B. eine Probe in Eisessig gelöst und mit salzsäurehaltiger Jodkaliumlösung gekocht, sodann Wasser zugesetzt und filtriert, so läßt sich im Filtrate freigewordenes Jod mit Stärkekleister nachweisen. Ebenso wird die Umwandlung einer Lösung von Leukomalachitgrün in Essigsäure in Malachitgrün, die sich beim Erwärmen auch spontan langsam vollzieht, durch die Gegenwart eines der Ozonide stark beschleunigt.

Die Widerstandsfähigkeit unserer Ozonide spaltenden Eingriffen gegenüber deutet auf eine hydroaromatische Natur derselben mit 6gliedrigem Kerne hin. Während nach den Untersuchungen von Harries und seinen Mitarbeitern das Benzoltriozonid und homologe Verbindungen durch Wasser mit großer Leichtigkeit in Dialdehyde oder Ketoaldehyde umgewandelt werden können[1]) und auch das Dihydrobenzolozonid[2]) von Wasser beim Erwärmen unter Explosion und Bildung von Succinylaldehyd, Adipinaldehyd u. dgl. zersetzt wird, zerfällt das Tetrahydrobenzolozonid (dessen Analysenzahlen zwischen $C_6H_{10}O_3$ und $C_6H_{10}O_4$ liegen) erst bei energischem und langem Kochen mit Wasser in wenig Hexandialdehyd und viel Adipinsäure; das Dihydroxyloldiozonid $C_6H_6(CH_3)_2(O_3)_2$ geht erst bei längerem Kochen mit Wasser mit gelber Farbe in Lösung, ohne daß sich überhaupt definier-

---

[1]) C. Harries, Annal. d. Chem. **343**, 331, 1906; **374**, 288, 1910.

[2]) C. Harries und H. von Splawa-Neymann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **42**, I, 693, 1909.

bare Produkte daraus abspalten lassen[1]). Dagegen sind wiederum die Ozonide fünfgliedriger hydrierter cyclischer Komplexe offenbar viel leichter spaltbar. So geht das Cyclopentenozonid[2]) beim Kochen mit Wasser leicht und vollständig unter Bildung von Glutaraldehyd und -dialdehyd in Lösung.

Es ist Harries[3]) gelungen, die sich bei der Spaltung hydroaromatischer Ozonide ergebenden Schwierigkeiten teilweise dadurch zu umgehen, daß er dieselben einer energischen Reduktion unterwarf. So konnte das Dihydroxylolozonid, das sich, wie erwähnt, der spaltenden Wirkung des kochenden Wassers gegenüber widerstandsfähig erwies, durch Reduktion mit Aluminiumamalgam in ätherischer Lösung leicht in Lävulinaldehyd übergeführt werden.

Mit Rücksicht auf diese Angaben haben wir auch die Reduktion des Ozonids aus dem Destillationsprodukte der Cholsäure mit Aluminiumamalgam sowohl in ätherischer, als auch in Chloroformlösung versucht. Das Aluminiumamalgam wurde durch Übergießen von Aluminiumgries mit alkoholischer Sublimatlösung frisch bereitet. Unter lebhafter Gasentwicklung und Abscheidung von Aluminiumhydroxyd erfolgte Entfärbung der gelben Lösung. Die farblose Flüssigkeit hinterließ beim Eindunsten einen Rückstand, der noch immer das qualitative Verhalten des ursprünglichen Ozonids und auch noch die Reaktionen auf „aktiven Sauerstoff" zeigte. Unzersetzt flüchtige Aldehyde u. dgl. konnten nicht isoliert werden. Von einer glatten Aufspaltung war also auch unter diesen Verhältnissen keine Rede.

5. Ozonaufnahme des Dehydrocholons. Im Anschlusse an die obigen Untersuchungen haben wir auch das Verhalten des Preglschen Dehydrocholons dem Ozon gegenüber geprüft.

20 g reiner Cholsäure (Spt. 198°) wurden nach Pregls[4]) Vorschrift auf Dehydrocholon verarbeitet. Es geschah dies in der Art, daß in ca. 50 ccm Eisessig gelöst und unter Umschütteln

[1]) C. Harries und H. Neresheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, III, 2846, 1906.

[2]) C. Harries und L. Frank, Ber. d. Deutsch. chem Ges. 41, I, 1701, 1908.

[3]) C. Harries und H. Neresheimer, l. c.

[4]) F. Pregl, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 166, 1905.

10 ccm konz. Schwefelsäure hinzugefügt, sodann mit aufgesetztem Steigrohre vorsichtig zum Sieden erhitzt wurde. Nach ca. 1 Stunde wurde die dunkel gefärbte Lösung noch warm in 1 l Wasser eingegossen, 200 ccm gesättigter Kochsalzlösung hinzugefügt. Der grüne Niederschlag wurde sorgfältig gewaschen und getrocknet.

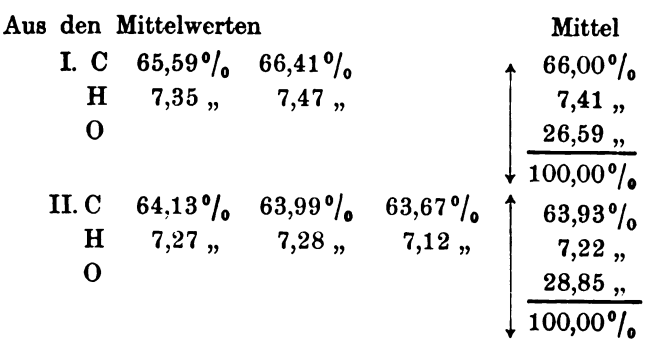
Zum Zwecke der Ozonidgewinnung wurde das Produkt (dessen schwefelsaure Lösung durch seine schön grüne Fluorescenz ausgezeichnet war) in Chloroform gelöst. Die dunkel gefärbte Lösung nahm nach mehrstündigem Ozoneinleiten eine zitronengelbe Färbung an, während sich eine geringe Menge eines braunen Harzes abschied. Es wurde nunmehr noch einige Stunden Ozon eingeleitet, die Lösung abgetrennt und das Chloroform im Faustschen Apparat durch Abblasen bei Zimmertemperatur vertrieben, der Rückstand in Chloroform gelöst, mit Petroläther gefällt, der Niederschlag in Eisessig in der Kälte gelöst, durch Wasserzusatz gefällt, gewaschen, vorsichtig getrocknet, die spröde Substanz nunmehr fein gepulvert, neuerlich auf gehärtetem Nutschfilter gründlich mit Wasser gewaschen und schließlich im Vakuum über Schwefelsäure zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Die Analyse ergab:

0,1578 g Substanz gaben 0,3793 g CO_2 und 0,1049 g H_2O
65,59 % C 7,35 % H
0,1566 g Substanz gaben 0,3812 g CO_2 und 0,1049 g H_2O
66,41 % C 7,47 % H.

Ein zweites Dehydrocholonpräparat wurde in gleicher Weise der Ozonidbehandlung unterworfen und analysiert.

0,1422 g Substanz gaben 0,3345 g CO_2 und 0,0932 g H_2O
64,13 % C 7,27 % H
0,1594 g Substanz gaben 0,3740 g CO_2 und 0,1044 g H_2O
63,99 % C 7,28 % H
0,1588 g Substanz gaben 0,3705 g CO_2 und 0,1021 g H_2O
63,67 % C 7,12 % H.



Aus den Mittelwerten

					Mittel
I.	C	65,59 %	66,41 %		66,00 %
	H	7,35 „	7,47 „		7,41 „
	O				26,59 „
					100,00 %
II.	C	64,13 %	63,99 %	63,67 %	63,93 %
	H	7,27 „	7,28 „	7,12 „	7,22 „
	O				28,85 „
					100,00 %

(berechnet für

$C_{23}H_{28}O + O_3 + O_3 = C_{23}H_{28}O_7$	C	66,35 %
	H	6,73 „
	O	26,92 „
		100,00 %
$C_{23}H_{28}O + O_3 + O_4 = C_{23}H_{28}O_8$	C	63,89 %
	H	6,48 „
	O	29,63 „
		100,00 %)

geht hervor, daß das Dehydrocholon zwei Moleküle Ozon unter Bildung eines Ozonides oder Perozonides aufgenommen haben dürfte, daß demnach anscheinend die Mehrzahl der zahlreichen doppelten Bindungen, die wir der Zusammensetzung nach in demselben vermuten können, durch Ozon nicht nachweisbar sind. Jedenfalls aber ist es gelungen, die Existenz mehrerer doppelter Bindungen im Dehydrocholon, auf die Pregl bereits auf Grund seiner molekularrefraktometrischen Bestimmungen geschlossen hatte, zur direkten Anschauung zu bringen.

Es möge uns gestattet sein, Herrn Dr. Emil Lenk für die uns bei den analytischen und präparativen Arbeiten freundlichst geleistete Beihilfe an dieser Stelle unseren Dank abzustatten.

Zusammenfassung.

In dem bei der trockenen Destillation von Cholsäure oder Biliansäure resultierenden öligen Produkte läßt sich das (bereits durch molekularrefraktometrische Bestimmungen wahrscheinlich gewordene) Vorhandensein mehrerer doppelter Bindungen durch Anlagerung von Ozon sicherstellen. Von Cholsäure einerseits, von einem Kalischmelzprodukte der Biliansäure andererseits ausgehend, wurden Produkte von übereinstimmender Zusammensetzung erhalten, denen (unter Anlehnung an die Preglschen Vorstellungen über die Konstitution der Cholsäure und der Annahme, daß das obige Destillationsprodukt aus einem Kohlenwasserstoffe mit 17 Kohlenstoffatomen bestehen dürfte) die Zusammensetzung $C_{17}H_{24}O_7$ vorläufig zugeschrieben werden kann. Es hat demnach allem Anscheine nach eine Sprengung

zweier doppelter Bindungen unter Ozonid- bzw. Perozonid-Bildung stattgefunden. Die resultierenden Ozonide sind durch ihre Widerstandsfähigkeit spaltenden Eingriffen gegenüber ausgezeichnet; sie sind in dieser Hinsicht von den Ozoniden aliphatischer Verbindungen scharf unterschieden und schließen sich dem (von Harries festgestellten) Verhalten mancher hydroaromatischer Verbindungen an.

Auch in dem Dehydrocholon Pregls, das unter Abspaltung von Sauerstoff und Austritt zahlreicher Wasserstoffatome aus der Cholsäure durch Einwirkung von Schwefelsäure in Eisessig entsteht, konnte durch Ozonanlagerung das Vorhandensein mehrerer doppelter Bindungen sichergestellt werden.

Über die Wirkung antiglucosurischer Mittel und über Leberglucosurie.

Von

Ernst Neubauer.

(Aus der 1. medizinischen Universitätsklinik in Wien.)

(Eingegangen am 17. Juni 1912.)

Mit 4 Figuren im Text und 1 Tafel.

I.

Bei der klinischen Behandlung der Glucosurien spielt die Diätetik eine entscheidende Rolle; nebenher werden seit langem mit größerem oder geringerem Erfolge Medikamente meist aus der Gruppe der Nervina angewendet. Rein klinische Mitteilungen über die Beeinflussung verschiedener Glucosurien durch Arzneimittel liegen in großer Zahl vor, darunter freilich nicht alle auf Grund einwandfreier Beobachtungen. Sie finden sich gut zusammengestellt und durch eigene Erfahrungen wesentlich ergänzt in der Arbeit M. Kaufmanns[1]) aus v. Noordens Frankfurter Krankenabteilung.

Viel spärlicher ist die Zahl der Mitteilungen über den Mechanismus, durch den gewisse Medikamente antiglucosurisch wirken. Und doch wäre es auch für die Klinik von Bedeutung, einen Einblick in ihre Wirkungsart zu gewinnen. Denn abgesehen davon, daß dadurch vielleicht die Indicationsstellung für ihre Anwendung verbessert werden könnte, ist zu erwarten, daß die Aufklärung ihres Wirkungsmechanismus auch die Art des Zustandekommens jener Glucosurien aufdecken würde, die durch diese Mittel antagonistisch beeinflußt werden.

Von den Mitteln, die die Klinik gegen Glucosurie anwendet, ist das Opium (und einige seiner Alkaloide) das am

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 48, 260 u. 436, 1903.

häufigsten verwendete und am längsten bekannte. Es ist einwandfrei festgestellt, daß es vor allem kleine Zuckermengen, die durch einfache Kohlenhydratbeschränkung nicht schwinden, beseitigen kann (Gigon u. a.). Auch von einigen Narkoticis im engeren Sinne ist es bekannt, daß sie die Zuckerausscheidung herabsetzen. So sinkt oft unter der Einwirkung größerer Alkoholmengen die diabetische Glucosurie, und größere Dosen Chloralhydrat können, wie F. Eckhardt[1]) beobachtete, gewisse experimentell zu erzeugende Glucosurieformen aufheben.

Von vornherein ist es wahrscheinlich, daß die Wirkung der Narkotica und Sedativa auf die Zuckerausscheidung von einem zentralen Angriffspunkte ausgeht. Es sollte daher zunächst einmal der Mechanismus der antagonistischen Beeinflussung einer zentral ausgelösten Glucosurie geprüft werden. Als solche kommt vor allem die Bernardsche Zuckerstichglucosurie in Betracht, die gerade in den letzten Jahren wieder erfolgreich bearbeitet wurde.

Bei Versuchen, die Zuckerstichglucosurie durch irgendwelche Eingriffe zu hemmen, ist es nötig, die Piqûre nach einer Methode auszuführen, die mit möglichst absoluter Regelmäßigkeit zum Übertritt von Zucker in den Harn führt. Um dies zu erzielen, wurde in allen folgenden Versuchen, falls nichts anderes angegeben ist, nicht nur der Zuckerstich an der klassischen Stelle am Boden des vierten Ventrikels ausgeführt, sondern noch eine Verletzung der untersten Windungen des Wurmes zugefügt, die nach Eckhardt allein schon genügt, Zuckerausscheidung herbeizuführen.

Mit Schonung der Nerven und nach Unterbindung der quer über das Operationsfeld ziehenden Gefäße wird bei diesem Verfahren zunächst die Membrana obturatoria freigelegt und in der Medianlinie der Längsrichtung nach mit der Lanzette gespalten. Durch einen Scherenschlag nach links und rechts, manchmal auch noch durch Abtragung der so gebildeten Membranzipfel, wird die Öffnung, die in den vierten Ventrikel führt, erweitert. Wenn es sich als vorteilhaft erwies, wurde mit der Schere auch noch ein Stück des Hinterhauptbeins entfernt. Dann werden mit der sagittal gestellten Lanzette die unteren Wurmwindungen in der Längsrichtung gespalten und hierauf überdies mit einer stumpfen Sonde der Zuckerstich an der typischen Stelle rechts und links von der Medianebene gesetzt. Dann wird die Hautwunde mit Klammern geschlossen. Bei genügender Übung ist der Eingriff in 10 bis 15 Minuten vollendet.

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 12, 276, 1880.

Bei den Vorversuchen wurden Kaninchen ohne Narkose oder in Urethannarkose verwendet. An diesen Tieren wurde zunächst die stündliche Zuckerausscheidung durch mehrere Stunden nach dem Zuckerstich bestimmt. Das war notwendig, weil zu erwarten war, daß eine etwaige Hemmung der Glucosurie nicht immer eine vollständige und dauernde, sondern vielleicht nur eine vorübergehende sein würde. Der Stundenharn wurde entweder durch eine Blasenkanüle oder, besonders in den späteren Versuchen, durch einen Verweilkatheter gewonnen. Die Zuckerbestimmungen wurden durch Vergärung im Lohnsteinschen Saccharimeter oder durch Polarisation, meist jodosaccharimetrisch mit der modifizierten Lehmann-Citronschen Methode, oft auch nach mehreren Methoden ausgeführt. Die Tiere wurden mehrere Tage lang mit Rüben gefüttert. Sie bekamen am Tage vor der Operation 20 g Traubenzucker, in 60 ccm Wasser gelöst, mit der Schlundsonde zugeführt, da sich in einem der ersten Versuche trotz gelungenen Zuckerstichs (Nachprüfung des anatomischen Präparats) und bei zuckerfreiem Harn die Leber als glykogenfrei erwies. Übrigens mußten bei Glykogenanreicherung der Leber die Hemmungsversuche, falls positiv ausfallend, um so beweisender sein. Vor Beginn des Eingriffes wurde den Kaninchen zur Verbesserung der Diurese Wasser, und zwar $^1/_{20}$ ihres Körpergewichts, mit der Schlundsonde beigebracht. Der vor der Operation entleerte Harn war stets zuckerfrei, wenn er auch, wie dies normale Kaninchenharne oft tun, bei längerem Kochen etwas reduzierte. Am anatomischen Präparat wurde das Gelingen des Zuckerstichs nachgeprüft. Bei den späteren Versuchsreihen wurde von Zeit zu Zeit immer wieder einmal ein Kontrollzuckerstich eingeschaltet, um Zufälligkeiten nach Möglichkeit auszuschließen.

Die in Tabelle I und II zusammengestellten Stundenversuche an Zuckerstichtieren ergaben folgende Befunde. Die bei verschiedenen Tieren sehr verschieden großen Harnmengen nehmen entweder vom Beginn des Versuches ab oder sie steigen zu einem Maximum in der 2. bis 4. Stunde und fallen dann wieder; sie sind bei den Urethantieren im Durchschnitt beträchtlich größer als bei den nicht narkotisierten. Die Reaktion des Harns wird nach dem Zuckerstich meist sauer, auch wenn

Ta-
Kaninchen, Zucker-

	Harn vor der Operation	Harn nach dem		
		1. Stunde	2. Stunde	3. Stunde
Versuch 1. 5. XII. 1911. 1900 g. 11 Uhr 15 Min. b. 11 Uhr 45 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	trüb, alkalisch zuckerfrei	2 ccm klar, sauer 1,00 % Zucker = 0,02 g	2 ccm klar, sauer 6,70 % Zucker = 0,134 g	1,5 ccm klar, sauer 7,87 % Zucker = 0,1181 g
Versuch 2. 4. I. 1912. 1800 g. 12 Uhr 40 Min. bis 1 Uhr: Zuckerstich, Blasenkanüle	trüb, alkalisch zuckerfrei	6,8 ccm sauer 0,30 % Zucker = 0,0204 g	2,2 ccm sauer 4,28 % Zucker = 0,0942 g	2,1 ccm sauer 8,0 % Zucker = 0,1680 g
Versuch 3. 30. XI. 1911. 1200 g. 10 Uhr 30 Min. b. 11 Uhr 10 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	zuckerfrei	1 ccm klar, sauer zuckerfrei	2 ccm klar, sauer 1,0 % Zucker = 0,02 g	2,5 ccm klar, sauer 0,9 % Zucker = 0,022 g
Versuch 4. 21. XII. 1911. 1500 g. 10 Uhr bis 10 Uhr 30 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	trüb, alkalisch zuckerfrei	3,7 ccm sauer 0,2 % Zucker = 0,0074 g	12,6 ccm sauer 0,93 % Zucker = 0,1172 g	18 ccm neutral 0,3 % Zucker = 0,054 g
Versuch 5. 20. XII. 1911. 1900 g. 10 Uhr 15 Min. b. 10 Uhr 45 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	trüb, neutral zuckerfrei	1,3 ccm sauer 0,2 % Zucker = 0,0026 g	4,2 ccm sauer 1,3 % Zucker = 0,0546 g	6 ccm sauer 0,4 % Zucker = 0,0240 g
Versuch 6. 12. XII. 1911. 1800 g. 9 Uhr 45 Min. b. 10 Uhr 15 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	alkalisch zuckerfrei	2,2 ccm schwach alkal. 0,53 % Zucker = 0,0117 g	3,5 ccm schwach sauer 1,9 % Zucker = 0,0665 g	1,5 ccm schwach sauer 4,31 % Zucker = 0,0646 g
Versuch 7. 9. XII. 1911. 1900 g. 9 Uhr 15 Min. bis 10 Uhr: Zuckerstich, Blasenkanüle	zuckerfrei	2,75 ccm 0,56 % Zucker = 0,0154 g	4,75 ccm 3,39 % Zucker = 0,1610 g	3 ccm 5,28 % Zucker = 0,1584 g Exitus

belle I.
stich ohne Narkose.

Zuckerstich in der 4. Stunde	5. Stunde	6. Stunde	7. Stunde	Gesamt-Harn- u. Zuckermenge
1,5 ccm klar, sauer 9,15 % Zucker = 0,1372 g	1 ccm klar, sauer 4,972 % Zucker = 0,0497 g	0,8 ccm klar, sauer 3,92 % Zucker = 0,0314 g	1 ccm klar, sauer 1,7 % Zucker = 0,017 g	9,8 ccm 0,5074 g
1,9 ccm schwach sauer 2,36 % Zucker = 0,0448 g	1 ccm sauer 0,75 % Zucker = 0,0127 g (5. u. 6. Stunde)	0,7 ccm sauer	0,8 ccm (1½ Std.) sauer 0,6 % Zucker = 0,0048 g	15,5 ccm 0,3449 g
4 ccm klar, sauer 1,9 % Zucker = 0,076 g	1 ccm klar, sauer 0,8 % Zucker = 0,008 g	1,5 ccm klar, sauer Spur Zucker	2 ccm klar, sauer zuckerfrei	12 ccm 0,1265 g
11 ccm neutral 0,15 % Zucker = 0,0165 g	8,8 ccm neutral zuckerfrei	8,5 ccm neutral zuckerfrei	14,5 ccm neutral zuckerfrei	45,3 ccm 0,1951 g
13 ccm sauer zuckerfrei	10,7 ccm sauer zuckerfrei	12,5 ccm sauer zuckerfrei	3 ccm sauer zuckerfrei	11,5 ccm 0,0812 g
Exitus				7,2 ccm 0,1428 g
				10,5 ccm 0,3348 g

Tabelle I

Kaninchen, Zucker-

	Harn vor der Operation	Harn nach dem 1. Viertelstunde	2. Viertelstunde	2. halben Stunde
Versuch 8. 16. II. 1912. 1760 g. 10 Uhr bis 10 Uhr 35 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	sauer zuckerfrei	6,5 ccm sauer 0,6 % Zucker = 0,0390 g	3 ccm sauer 0,99 % Zucker = 0,0297 g	5 ccm sauer 1,37 % Zucker = 0,0685 g
	Harn vor der Operation	**Harn nach dem 1. halben Stunde**	**2. halben Stunde**	**3. halben Stunde**
Versuch 9. 7. II. 1912. 2050 g. 11 Uhr 30 Min. b. 12 Uhr 5 Min.: Zuckerstich, Verweilkatheter	klar, alkalisch zuckerfrei	19,5 ccm klar, alkalisch 0,38 % Zucker = 0,0741 g	17,1 ccm trüb, alkalisch 1,15 % Zucker = 0,1966 g	8 ccm trüb, alkalisch 2,82 % Zucker = 0,2256 g
	Harn von 12 Uhr 30 Min bis 3 Uhr 30 Min.		**Harn von 3 Uhr 30 Min. bis 5 Uhr 30 Min.**	
Versuch 10. 10. XI. 1911. 1800 g. Ohne vorhergehende Traubenzuckergabe 12 Uhr bis 12 Uhr 30 Min.: Zuckerstich	45 ccm 2,67 % Zucker = 1,201 g		12 ccm 3,32 % Zucker = 0,398 g	

Ta-

Kaninchen, Zuckerstich

	Harn vor der Operation	Harn nach dem 1. halben Stunde	2. halben Stunde	2. Stunde
Versuch 11. 18. I. 1912. 1550 g. 1,5 g Urethan. 10 Uhr 30 Min. b. 10 Uhr 55 Min.: Blasenkanüle, Zucherstich	trüb, alkalisch zuckerfrei	3,3 ccm trüb, alkalisch 0,34 % Zucker = 0,0112 g	0,7 ccm trüb, alkalisch 0,5 % Zucker = 0,0035 g	3,1 ccm klar, neutral 4,47 % Zucker = 0,1386 g
Versuch 12. 8. I. 1912. 1600 g. 3,5 g Urethan. 12 Uhr 20 Min. b. 12 Uhr 40 Min.: Zuckerstich, Blasenkanüle	trüb, alkalisch zuckerfrei	0,3 ccm klar, alkalisch zuckerfrei (1. und 2. halbe Stunde zusammen)		2,7 ccm klar, neutral 6,66 % Zucker = 0,1798 g

(Fortsetzung).
stich ohne Narkose.

Zuckerstich in der 3. u. 4. halben Stunde	5. halben Stunde	6. halben Stunde	Harn in den folgenden 20 Minuten		Gesamt-Harn- und Zuckermenge
11,8 ccm sauer 4,07 % Zucker = 0,4802 g	3,1 ccm sauer 7,61 % Zucker = 0,2359 g	2,5 ccm sauer 9,69 % Zucker = 0,244 g	1,9 ccm neutral 9,69 % Zucker = 0,1841 g		33,8 ccm 1,2814 g
Zuckerstich in der 4. halben Stunde	**5. halben Stunde**	**6. halben Stunde**	**7. halben Stunde**	**8. halben Stunde**	**Gesamt-Harn- und Zuckermenge**
7 ccm neutral, klar 2,62 % Zucker = 0,1834 g	5 ccm trüb, sauer 4,25 % Zucker = 0,2125 g	1,3 ccm trüb, sauer 2,56 % Zucker = 0,0333 g	1,1 ccm trüb, sauer 1,57 % Zucker = 0,0173 g	0,8 ccm trüb, sauer 1,50 % Zucker = 0,012 g	59,8 ccm 0,9440 g

Harn von 5 Uhr 30 Min. bis 9 Uhr 30 Min. a. m. 11. XI.	Harn von 9 Uhr 30 Min. a. m. bis 7 Uhr p. m.	Harn von 7 Uhr p. m. bis 11 Uhr 30 Min. a. m. 12. XI.
40 ccm 0 % Zucker	30 ccm 1,9 % Zucker = 0,57 g	13 ccm 3,2 % Zucker = 0,416 g

belle II.
in Urethannarkose.

Zuckerstich in der 3. Stunde	4. Stunde	5. Stunde	11. halben Stunde	12. halben Stunde	7. Stunde	Gesamt-Harn- u. Zuckermenge
4,6 ccm trüb, alkal. 7,16 % Zuck. = 0,3293 g	6,7 ccm trüb, alkal. 6,59 % Zuck. = 0,4415 g	4 ccm neutral 9,53 % Zuck. = 0,3812 g	1,6 ccm neutral 10,0 % Zuck. = 0,16 g	1,5 ccm schw. sauer 10,5 % Zuck. = 0,1575 g	2,5 ccm sauer 8,51 % Zuck. = 0,2127 g	28 ccm 1,8355 g
1,6 ccm neutral 8,0 % Zucker = 0,128 g	0,2 ccm neutral reichlich Zucker		0,5 ccm 6,0 % Zucker = 0,03 g			4,8 ccm ca. 0,3 g

Tabelle II
Kaninchen, Zuckerstich

	Harn vor der Operation	Harn nach dem 1. halben Stunde	2. halben Stunde	2. Stunde
Versuch 13. 5. I. 1912. 1800 g. 2,1 g Urethan. 11 Uhr 15 Min. b. 11 Uhr 40 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle	klar, sauer zuckerfrei	9 ccm alkalisch 3,15% Zucker = 0,2835 g		3,5 ccm neutral 8,68% Zucker = 0,3038 g

	Harn vor der Operation	Harn nach dem 1. Viertelstunde	2., 3. u. 4. Viertelstunde
Versuch 14. 4. III. 1912. 2050 g. 1,54 g Urethan. 12 Uhr 20 Min. Zuckerstich, Verweilkatheter	alkalisch, trüb zuckerfrei	14,5 ccm trüb, alkalisch 1,57% Zucker = 0,2276 g	23,7 ccm trüb, alkalisch 2,78% Zucker = 0,6589 g

sie vor der Operation stark alkalisch gewesen war. Die absoluten Zuckermengen nehmen in der Regel bis zur 2., 3. oder 4. Stunde zu und sinken meist in der 4. bis 7. Stunde nach dem Zuckerstich auf den Nullwert; in einem Versuche sah ich nach dem Verschwinden des Zuckers aus dem Harn am 2. und 3. Tage neuerdings eine starke Glucosurie auftreten. Die absoluten Zuckermengen sind beim Urethantier durchschnittlich größer als beim nicht narkotisierten. Das stimmt mit der Beobachtung von Underhill[1]) überein, daß das Urethan das Zustandekommen der Adrenalinglucosurie begünstigt. Die Zuckermenge während der gesamten Beobachtungszeit lag beim nicht narkotisierten Tier zwischen 0,14 und 1,28 g, beim Urethantier zwischen 0,3 und 2,8 g; die maximale stündliche Zuckermenge bei 0,48 bzw. 1,067 g. Die prozentualen Zuckerwerte erreichen in der 3. bis 4. Stunde ihren Höhepunkt, meist etwas später als die absoluten Werte, da nach der Erreichung des maximalen Glucosuriegrades die Harnmenge oft viel rascher sinkt als das ausgeschiedene Zuckerquantum. Anderweitige Beobachtungen an diesen Tieren sollen später in anderem Zusammenhang besprochen werden.

[1]) Journ. of biol. chemistry 9, Nr. 13, 1911.

(Fortsetzung).
in Urethannarkose.

Zuckerstich in der 3. Stunde	4. Stunde	5. Stunde	11. halben Stunde	12. halben Stunde	Gesamt- Harn- u. Zuckermenge
10,1 ccm	3 ccm	2,6 ccm	2,7 ccm		22,8 ccm
sauer 4,74 % Zuck. = 0,4787 g	sauer 4,93 % Zuck. = 0,1479 g	sauer 2,75 % Zuck. = 0,0715 g	sauer 2,98 % Zucker = 0,0805 g		1,8659 g

Zuckerstich in der 5. bis 9. Viertelstunde	10. bis 13. Viertelstunde	
25 ccm	11 ccm	74,2 ccm
klar, alkalisch 3,63 % Zucker = 0,9075 g	alkalisch, etwas getrübt 9,7 % Zucker = 1,067 g	2,861 g

Versuche, die Zuckerstichglucosurie zu hemmen, wurden in folgender Art ausgeführt: Alkohol wurde per os gegeben, Chloralhydrat in wässeriger Lösung subcutan; da beim Opium die Schwierigkeit besteht, daß sich bei der Aufnahme per os nur schwer abschätzen läßt, wieviel und wann genügende Mengen resorbiert sind, so wurde statt des Opiums Morphium oder Pantopon subcutan verabreicht. Die Tiere erhielten am Tage vor dem Versuche Traubenzucker, unmittelbar vor der Operation Wasser in der gleichen Menge wie die Kontrolltiere. Der Harn wurde durch Blasenkanüle oder Dauerkatheter gewonnen, in wenigen Versuchen einfach abgepreßt, wenn er nur in mehrstündigen Intervallen untersucht werden sollte. Bei den Chloralhydrattieren erfolgte die Zuckerbestimmung im Harn stets auch durch Vergärung, da bekanntlich die Urochloralsäure direkt reduziert. Die Versuche mit Chloralhydrat und Alkohol sind in Tabellenform zusammengestellt; von den Morphium-Pantoponversuchen sind einige Protokolle nicht in tabellarischer Anordnung angeführt und die Zucker- und Harnausscheidungskurven beigegeben. Es zeigte sich nämlich, daß der Einfluß des Morphiums auf die Zuckerstichglucosurie ein geringer ist, daß es die Zuckerausscheidung nie vollständig be-

Ta-

Kaninchen, Zucker-

	Harn vor der Operation	Harn	
		1. Stunde	2. Stunde
Versuch 15. 27. XII. 1911. 1300 g. 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 45 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 10 Uhr 45 Min. 0,75 g Chloralhydrat 11 „ 15 „ 0,25 g „ 1 „ 0,25 g „	sauer, klar zuckerfrei	1,2 ccm sauer zuckerfrei	1,0 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion
Versuch 16. 29. XII. 1911. 1900 g. 11 Uhr 35 Min. bis 12 Uhr Zuckerstich, Blasenkanüle 11 Uhr 0,5 g Chloralhydrat 12 „ 0,5 g „ 4 „ 0,5 g „	neutral Nachreduktion	1,1 ccm alkal. 0,4 % = 0,004 g Zucker	11,1 ccm sauer 0,45 % = 0,05 g Zucker
Versuch 17. 30. XII. 1911. 1800 g. 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr 15 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 11 Uhr 0,5 g Chloralhydrat 11 „ 30 Min. 0,5 g „ 12 „ 15 „ 0,25 g „	neutral, trüb	1,5 ccm sauer 0,35 % Zucker	1 ccm sauer 0,35 % Zucker Red. 0,5 %
Versuch 18. 2. I. 1912. 1620 g. 12 Uhr 5 Min. bis 12 Uhr 30 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 11 Uhr 45 Min. 1 g Chloralhydrat 12 „ 15 „ 0,5 g „ 2 „ 15 „ 0,5 g „		0,8 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion	3,7 ccm sauer 0,05 % Zucker Nachreduktion

seitigt; eine etwaige vorübergehende Beeinflussung der Zuckerausscheidung scheint mir aber bei der gewählten Darstellungsart ersichtlicher zu sein.

Kaninchen, Zuckerstich, Morphium, Pantopon.

Versuch 24. 13. XI. 1911. 1800 g.

12 Uhr bis 12 Uhr 30 Min. Zuckerstich. Vor der Eröffnung der Membrana obturatoria 0,02 g Morphium hydrochloricum subcutan.

Harn von 12 Uhr 30 Min. bis 5 Uhr 30 Min. 50 ccm, 6,6 % = 3,3 g Zucker
„ „ 5 „ 30 „ „ 10 „ a. m. 14. XI. 85 ccm, Nachreduktion.

Versuch 25. 18. XI. 1500 g.

12 Uhr 30 Min. bis 12 Uhr 45 Min. Zuckerstich. 12 Uhr 45 Min. 0,011 g Morphium hydrochloricum.

belle III.
stich, Chloralhydrat.

nach dem Zuckerstich in der					Gesamtharn- und Zuckermenge
3. Stunde	4. Stunde	5. Stunde	6. Stunde	7. Stunde	
5,4 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion	8,2 ccm sauer zuckerfrei geringe Nachreduktion	4,8 ccm sauer zuckerfrei geringe Nachreduktion	3,0 ccm sauer zuckerfrei geringe Nachreduktion	3,0 ccm sauer zuckerfrei geringe Nachreduktion	26,6 ccm 0 g
8,9 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion	9,7 ccm sauer zuckerfrei	8,1 ccm sauer zuckerfrei	7,2 ccm sauer zuckerfrei		46,1 ccm 0,054 g
2,5 ccm sauer 0,3 % Zucker Red. 0,6 %	0,4 ccm sauer zuckerfrei	1,3 ccm sauer zuckerfrei	1,0 ccm sauer zuckerfrei		7,7 ccm 0,0162 g
3,8 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion Red. 0,31 %	9,6 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktiou	20,5 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion	36,0 ccm sauer zuckerfrei Nachreduktion		74,4 ccm 0,002 g

Harn vor der Operation zuckerfrei.

Harn von 12 Uhr 45 Min. bis 3 Uhr 30 Min. 50 ccm 2,7 % = 1,35 g Zucker
„ „ 3 „ 30 „ „ 5 „ 15 „ 16 „ 3,1 % = 0,496 g „
66 ccm 1,846 g Zucker
„ „ 5 „ 15 „ „ 11 „ 30 „ 9. XI. 70 ccm, Nachreduktion.

Versuch 26. 23. XI. 1911. 1250 g.

9 Uhr 45 Min. Zuckerstich, 0,025 g Morphium hydrochloricum.

Harn vor der Operation zuckerfrei.

Harn von 9 Uhr 45 Min. bis 11 Uhr 15 Min. 25 ccm, 0,6 % = 0,15 g Zucker
„ „ 11 „ 15 „ „ 3 „ 15 „ 25 „ 3,2 % = 0,80 g „
„ „ 3 „ 15 „ „ 6 „ 5 „ 0,6 % = 0,03 g „
55 ccm 0,98 g Zucker

Der folgende Harn zuckerfrei.

Ta-
Kaninchen, Zucker-

	Harn vor der Operation	Harn 1. halb. Std.	2. halb. Std.
Versuch 19. 24. I. 1750 g. 11 Uhr 25 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 10 Uhr 30 Min. 8,8 ccm Alkohol	neutral, trüb zuckerfrei	1,1 ccm sauer zuckerfrei	
Versuch 20. 13. II. 2050 g. 10 Uhr 35 Min. bis 11 Uhr 5 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 10 Uhr 30 Min. 10,2 ccm Alkohol	neutral zuckerfrei	1,1 ccm neutral zuckerfrei	
Versuch 21. 27. I. 1640 g. 10 Uhr. 15 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 9 Uhr 40 Min. 5,4 ccm Alkohol 10 „ 30 „ 2,8 ccm „ 10 „ 50 „ 2,8 ccm „		17,5 ccm zuckerfrei	1 ccm zuckerfrei
Versuch 22. 29. I. 1540 g. 10 Uhr 10 Min. bis 10 Uhr 35 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle 10 Uhr 5 Min. 7,7 ccm Alkohol		5,5 ccm sauer zuckerfrei	0,7 ccm sauer zuckerfrei
Versuch 23. 16. III. 1700 g. 3 Uhr 55 Min. Zuckerstich, Verweilkatheter 3 Uhr 8,5 ccm Alkohol	alkalisch trüb zuckerfrei	13,5 ccm alkalisch trüb Nach-reduktion zuckerfrei	1,5 ccm neutral, klar 0,3 % Zucker = 0,0045 g

Versuch 27. 7. XII. 1911. 1550 g.

10 Uhr 20 Min. bis 11 Uhr Zuckerstich, Blasenkanüle. 1 Uhr 50 Min. 0,03 g Morphium hydrochloricum subcutan.

Harn vor der Operation neutral, zuckerfrei.

Harn von 11 bis 12 Uhr	1,75 ccm,	sauer,	7,33 %	=	0,1283 g	Zucker
„ „ 12 „ 1 „	1,75 „	„	9,02 %	=	0,1578 g	„
„ „ 1 „ 2 „	0,75 „	„	3,6 %	=	0,027 g	„
„ „ 2 „ 3 „	1,0 „				0,3131 g	Zucker
„ „ 3 „ 4 „	1,5 „					
„ „ 4 „ 5 „	1,75 „					
„ „ 5 „ 6 „	1,75 „					
„ „ 6 „ 7 „	2,0 „					
	12,25 ccm.					

belle IV.
stich, Alkohol.

nach dem Zuckerstich in der 2. Std.	5. halb. Std.	6. halb. Std.	4. Std.	5. Std.	11. halb. Std.	Gesamtharn- und Zuckermenge
1,5 ccm neutral zuckerfrei Nachreduktion	4,7 ccm neutral 1,5 % Zucker = 0,0705 g					7,3 ccm 0,0705 g
1,5 ccm sauer zuckerfrei	1,0 ccm sauer zuckerfrei					3,6 cm 0 g
0,8 ccm zuckerfrei (Exitus)						19,3 ccm 0 g
0,9 ccm sauer zuckerfrei	2,5 ccm sauer 0,5 % Zucker = 0,0125 g		5,0 ccm sauer 1,09 % Zucker = 0,0545 g	2,6 ccm sauer 0,6 % Zucker = 0,0156 g	1,3 ccm sauer 0,9 % Zucker = 0,0117 g	18,5 ccm 0,0943 g
6,0 ccm sauer, klar 1,4 % Zucker = 0,084 g	1,8 ccm sauer, klar 1,8 % Zucker = 0,0324 g					22,8 ccm 0,1209 g

Versuch 28. 11. XII. 1911. 1700 g.

8 Uhr 45 Min. bis 9 Uhr 20 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle. 12 Uhr 10 Min. 0,025 g Morphium hydrochloricum subcutan.

Harn vor der Operation zuckerfrei. Harn von 9 Uhr 20 Min.

bis 10 Uhr 20 Min.	0,75 ccm,	sauer,	0,15 % = 0,0011 g Zucker		
„ 11 „ 20 „	5,5 „	„	2,67 % = 0,1469 g „		
„ 12 „ 20 „	2,8 „	„	1,12 % = 0,0314 g „		
„ 1 „ 20 „	1,25 „	„	zuckerfrei, 0,1794 g Zucker		
„ 2 „ 20 „	1,5 „	„	„		
„ 3 „ 20 „	2,8 „	„	„		
„ 4 „ 20 „	3,2 „	„	„		
„ 5 „ 20 „	3,8 „	„	„		
„ 6 „ 20 „	4,2 „	„	„		

Versuch 29. 14. XII. 1911. 1750 g.

10 Uhr 15 Min. bis 10 Uhr 40 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle. 1 Uhr 30 Min. 0,026 g Morphium hydrochloricum subcutan.

Harn von 10 Uhr 40 Min.

Zeit	Menge	Reaktion	Zucker
bis 11 Uhr 40 Min.	4,0 ccm,	sauer,	0,25 % = 0,01 g Zucker
„ 12 „ 40 „	4,5 „	„	0,67 % = 0,0302 g „
„ 1 „ 40 „	6,2 „	„	1,153 % = 0,0715 g „
„ 2 „ 40 „	6,5 „	„	0,61 % = 0,0396 g „
„ 3 „ 40 „	4,2 „	„	0,5 % = 0,0210 g „
„ 4 „ 40 „	2,2 „	„	0,83 % = 0,0183 g „
„ 5 „ 40 „	1,8 „	„	0,9 % = 0,0162 g „
„ 6 „ 40 „	2,0 „	„	0,5 % = 0,010 g „
„ 7 „ 40 „	6,6 „	zuckerfrei,	0,2168 g Zucker
„ 8 „ 40 „	5,5 „	„	

Versuch 30. 15. XII. 1911. 1500 g.

10 Uhr bis 10 Uhr 30 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle. 1 Uhr 20 Min. 0,02 g Morphium hydrochloricum.

Harn vor der Operation alkalisch, zuckerfrei.

Harn von 10 Uhr 30 Min.

Zeit	Menge	Reaktion	Zucker
bis 11 Uhr 30 Min.	10,0 ccm,	alkalisch,	0,2 % = 0,02 g Zucker
„ 12 „ 30 „	14,5 „	sauer,	0,45 % = 0,0652 g „
„ 1 „ 30 „	14,5 „	neutral,	0,42 % = 0,0609 g „
„ 2 „ 30 „	5,5 „	alkalisch,	0,3 % = 0,0165 g „
„ 3 „ 30 „	3,0 „	neutral, Spur	— — „
„ 4 „ 30 „	2,8 „	sauer,	0,3 % = 0,0084 g „
„ 5 „ 30 „	2,0 „	„ zuckerfrei	0,1710 g Zucker
„ 6 „ 30 „	3,2 „	„ „	

Versuch 31. 26. II. 1912. 1700 g.

10 Uhr 55 Min. Zuckerstich, 10 Uhr 30 Min. 0,02 g Morphium hydrochloricum, 11 Uhr 30 Min. 0,01 g Morphium hydrochloricum, 12 Uhr 20 Min. 0,005 g Morphium hydrochloricum.

Harn von 10 Uhr 55 Min.

Zeit	Menge	Reaktion	Zucker
bis 11 Uhr 10 Min.	10,5 ccm,	alkalisch, zuckerfrei	
„ 11 „ 40 „	5,7 „	„	0,47 % = 0,0268 g Zucker
„ 12 „ 25 „	4,0 „	neutral,	2,82 % = 0,1128 g „
„ 12 „ 55 „	2,3 „	sauer,	5,98 % = 0,1375 g „
„ 1 „ 55 „	3,5 „	neutral,	5,69 % = 0,2091 g „
	26,0 ccm		0,4862 g Zucker

Versuch 32. 6. XII. 1911. 2000 g.

10 Uhr 45 Min. bis 11 Uhr 15 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle. 2 Uhr 7 Min. 0,04 g Pantopon subcutan..

Harn vor der Operation alkalisch, zuckerfrei.

Harn von 11 Uhr 15 Min.

Zeit	Menge	Reaktion	Zucker
bis 12 Uhr 15 Min.	7,5 ccm		0,595 % = 0,0446 g Zucker
„ 1 „ 15 „	4,5 „		2,23 % = 0,1003 g „
„ 2 „ 15 „	5,0 „	sauer,	2,8 % = 0,14 g „

bis 8 Uhr 15 Min.	5,5 ccm	sauer,	2,78 %	= 0,1529 g	Zucker
„ 4 „ 15 „	1,5 „	„	3,15 %	= 0,0472 g	„
„ 5 „ 15 „	3,75 „	„	0,87 %	= 0,0326 g	„
„ 6 „ 15 „	4,0 „	„	0,7 %	= 0,028 g	„
„ 7 „ 15 „	4,5 „	„	0,9 %	= 0,0405 g	„
„ 8 „ 15 „	7,0 „		2,13 %	= 0,1491 g	„
	43,25 ccm			0,7352 g	Zucker

Bei der Durchsicht der Hemmungsversuche zeigt sich zunächst, daß das Chloralhydrat, das schon von Eckhardt bei der Zuckerstichglucosurie mit Erfolg versucht worden ist, unter den angewendeten Mitteln am stärksten antagonistisch wirkt. Von 7 gut verlaufenen Versuchen sind 4 als Stundenversuche in Tabelle III aufgenommen; die Tiere erhielten 0,69 bis 1,23 g Chloralhydrat pro 1 kg Körpergewicht. Der Cornealreflex war meist nur ganz kurze Zeit erloschen. Zucker trat im Harn entweder gar nicht oder in minimaler Menge, im Maximum 0,054 g, auf; am Ende der 3. Stunde nach dem Zuckerstich war er auch in diesen Fällen stets wieder verschwunden. Die Diurese war meist recht gut, wenn auch im Durchschnitt etwas geringer als bei Zuckerstichtieren ohne Chloralhydratnarkose. Hier sei auch angeführt, daß ein Zuckerstichversuch bei einem 2 Stunden in Chloroformnarkose gehaltenen Kaninchen gleichfalls ohne Glucosurie verlief, allerdings bei geringer Diurese.

Etwas weniger mächtig als die Wirkung des Chloralhydrats erwies sich die des Alkohols. Er wurde in Mengen von 4,9 bis 6,6 ccm pro 1 kg Körpergewicht, mit Wasser auf eine Konzentration von ca. 10% verdünnt, gegeben. Es wurde nach dem Zuckerstich entweder kein Zucker oder doch nur eine geringe Menge ausgeschieden, im Maximum 0,1209 g. Die Diurese ist viel geringer als bei den Chloralhydrattieren.

Am geringsten erwies sich die Wirkung von Morphium und Pantopon. Diese Mittel wurden in Dosen von 0,007 bis 0,02 g pro 1 kg Körpergewicht, bisweilen in verteilten Dosen, subcutan gegeben. Wurde das Morphium einige Zeit vor oder unmittelbar nach dem Zuckerstich injiziert, so verhinderte es in keinem Versuche das Auftreten der Glucosurie; da die ausgeschiedene Gesamtzuckermenge auch bei den Kontrolltieren individuell sehr verschieden ist, läßt sich aus diesen Versuchen höchstens entnehmen, daß die Wirkung des Morphiums jedenfalls geringer ist wie die des Alkohols und des Chloralhydrats.

Da schien ein Vorgehen aussichtsreicher, bei dem nach Eintritt der Zuckerstichglucosurie Morphium oder Pantopon gegeben wurde unter Beobachtung des weiteren Verlaufes der Zucker-

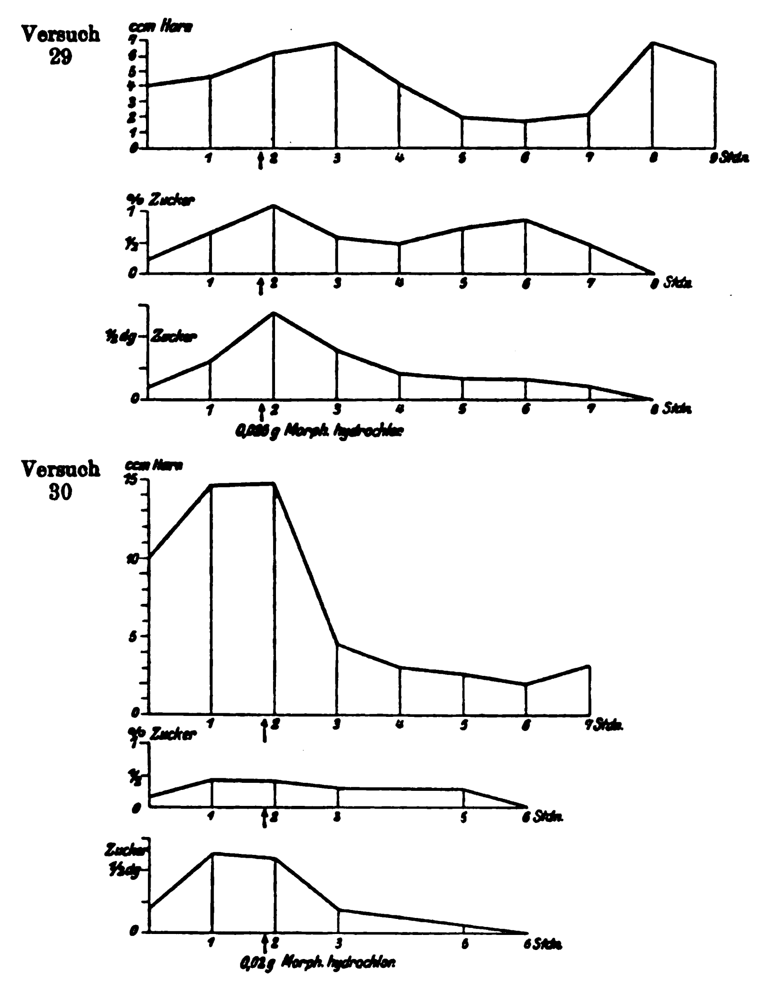


Fig. 1. Zucker- und Harnausscheidungskurven zweier Zuckerstich-Morphiumversuche.

ausscheidungskurve. In der Tat sieht man in derartigen Versuchen gelegentlich ein Absinken der Glucosurie in der der Morphiuminjektion folgenden Stunde, oft sinkt auch die Harnmenge ab (s. Fig. 1). Pantopon war in einem Versuch wirkungslos. Nun beobachtet man aber auch bei den Kontroll-

tieren bisweilen ziemlich jähe Kurvenabstürze. Mag also auch eine gewisse antagonistische Wirkung des Morphiums bestehen, jedenfalls ist sie auf diesem Wege nicht zwingend nachzuweisen. Da nach Pavy[1]) das Morphium ebenso wie das Opium beim menschlichen Diabetes die Glucosurie herabsetzt, so kann in der Anwendung des Morphiums statt des Opiums nicht wohl die Ursache für das Ausbleiben eines größeren antiglucosurischen Effektes gelegen sein. Viel wahrscheinlicher liegt der Grund hierfür in dem Glykogenreichtum meiner Versuchstiere; sie waren, und das scheint mir bei Hemmungsversuchen gegenüber der Zuckerstichwirkung durchaus nötig, reichlich mit Kohlenhydraten gefüttert worden und hatten am Tage vor der Operation auch noch 20 g Traubenzucker zugeführt bekommen. Nun liegen klinische Beobachtungen vor, die besagen, daß das Opium besonders dann eine bestehende Zuckerausscheidung herabsetzt, wenn sie auf Kosten von Eiweiß und Fett erfolgt. Ähnliches hat P. F. Richter[2]) im Experiment gesehen. Er fand nämlich, daß Opium die Diuretinglucosurie meist aufhebt, daß der Erfolg aber nicht der gleiche ist, wenn die Versuchstiere reichlich Traubenzucker bekommen haben.

Wie dem auch sein mag, jedenfalls ist erwiesen, daß unter den nach dieser Richtung untersuchten Mitteln das Chloralhydrat die Zuckerstichglucosurie am stärksten hemmt, daß es daher wohl das geeignetste Mittel ist für die Untersuchung des Angriffspunktes des Hemmungsmechanismus. Es liegt nahe anzunehmen, daß eine durch ein Narkoticum hervorgerufene Hemmungswirkung von einem zentralen Angriffspunkt ausgeht. Gerade beim Zuckerstich ist es nun auf Grund der schönen Arbeiten von R. Kahn[3]) aus den letzten Jahren möglich geworden, die Lokalisierung des Angriffspunktes des Chloralhydrats zu versuchen. Kahn fand, daß der durch den Zuckerstich gesetzte und durch die Splanchnici in die Nebennieren fortgeleitete Reizzustand zu gewaltigen Veränderungen in diesen Organen führt. Auf der Höhe der Zuckerstichwirkung ist der

[1]) Guys Hospital report 15; zit. nach P. F. Richter, Zeitschr. f. klin. Med. **36**, 152.

[2]) Zeitschr. f. klin. Med. **36**, 152.

[3]) Siehe bes. Arch. f. d. ges. Physiol. **140**, 209.

Gehalt der Nebenniere an blutdrucksteigernder Substanz sehr stark herabgesetzt. Auch histologisch bietet das Organ ein völlig verändertes Bild; die Chromierbarkeit schwindet zum größten Teil, die Zellen werden arm an Granula, reich an Vakuolen. Durchschneidung des Nervus splanchnicus schützt die von ihm versorgte Nebenniere vor dieser Veränderung; es wird dann eben der Reiz vom Zentrum nicht mehr zur Nebenniere geleitet und diese nicht veranlaßt, ihr Adrenalin auszuschütten; die Glucosurie bleibt aus. Hemmt nun ein Mittel die Zuckerstichglucosurie, indem es etwa wie die Splanchnicusdurchschneidung die Reizleitung zur Nebenniere unterbricht oder etwa direkt am Boden des 4. Ventrikels hemmend eingreift, so muß ganz ebenso wie nach der Splanchnicusdurchtrennung die oben beschriebene Nebennierenveränderung ausbleiben. Findet man dagegen trotz Ausbleibens der Glucosurie die Nebennieren in typischer Weise verändert, so muß der Angriffspunkt ein peripherer sein.

Ich war gerade mit Untersuchungen in dieser Richtung beschäftigt[1]), als die interessante Arbeit von Starkenstein[2]) erschien, deren diesbezügliche Resultate ich bestätigen kann: bei der Hemmung der Zuckerstichglucosurie durch Chloralhydrat bleibt die typische Nebennierenveränderung nicht aus. Das gleiche gilt, wie ich hinzufügen kann, vom Alkohol. Es wird also durch diese Mittel die Reizleitung zur Nebenniere nicht unterbrochen, sondern erst jener Teil des zur Zuckerausscheidung führenden Mechanismus gehemmt, der peripher von der Nebenniere gelegen ist. Dabei bestehen nun verschiedene Möglichkeiten.

1. Es kommt auch nach Chloralhydrat usw. zu Hyperglykämie. Es bleibt nur die Glucosurie aus, vielleicht im Zusammenhang mit der Verminderung der Diurese.

2. Das Chloralhydrat, das sich nach seiner Reduktion zu Trichloräthylalkohol in großem Ausmaße mit Glucuronsäure paart, entzieht dem Körper das für die Glucosurie verfügbare Kohlenhydrat.

---

[1]) Die Nebennieren wurden in Müllersche Flüssigkeit gebracht, 14 Tage darin belassen; nach Auswaschen in fließendem Wasser wurden die Präparate in Paraffin eingebettet und geschnitten.

[2]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **10**, Nr. 4.

3. Das Chloralhydrat ist ein echter Antagonist des von der Nebenniere nach dem Zuckerstich in vermehrter Menge ausgeschütteten Adrenalins.

Der erste Punkt ist durch Bestimmung des Blutzuckergehaltes zu entscheiden. Es wurden zunächst bei verschiedenen Versuchstieren in verschiedenen Zeiträumen nach dem Zuckerstich Zuckerbestimmungen im Blute nach der Methode Pflüger-Allihn ausgeführt, dann in gleicher Weise bei Tieren, bei denen die Zuckerausscheidung durch Chloralhydrat oder Alkohol gehemmt war. Zu bemerken ist hier, daß die Blutzuckerwerte, mit Hilfe einer Reduktionsmethode bestimmt, für die Chloralhydrattiere etwas zu hoch erscheinen müssen wegen des Gehalts des Blutes an direkt reduzierender Urochloralsäure.

Tabelle V.

Blutzucker nach dem Zuckerstich in $^0/_0$, Zuckerprozente im Harn unmittelbar vor der Blutentnahme (unter den zugehörigen Blutzuckerwerten angeführt.)

	Nach dem Zuckerstich								
	$^1/_4$ St.	2 St.	3 St.	$3^1/_2$ St.	$4^1/_2$ St.	$6^1/_2$ St.	7 St.	$7^1/_2$ St.	$8^1/_2$ St.
Zuckerstich ohne Narkose oder in Urethannarkose	0,4177 (Urethan) 0,75 Vers. 36		0,7613 0,3461 (Urethan) 0[1] 9,7 Vers. 14	0,3859 9,69 Vers. 8	0,2233 1,44	0,2376 +		0,1453 0,6	0,1588 0
Zuckerstich-Chloralhydratversuche			0,4067 0	0,2587 0[1]	0,149 0	0,1674 0 Vers.17	0,1298 0 Vers.18		
Zuckerstich-Alkoholversuche		0,3401 0 Vers.20	0,2500 1,8 Vers.23						
Zuckerstich-Morphiumversuche	0,2068 0		0,3087 5,69 Vers.31						

Die in Tabelle V zusammengestellten Versuche zeigen, daß der Blutzuckerwert um die dritte Stunde nach dem Zuckerstich am größten ist; das entspricht auch der Harnzuckerkurve. In Versuchen, in denen die Glucosurie durch Chloralhydrat oder Alkohol aufgehoben wird, liegen die Blutzuckerzahlen gleichfalls über den normalen. Eine gewisse Nierenwirkung

[1]) Geringe Diurese.

dürfte also bei der Hemmung mit im Spiele sein. Doch ist sie allein nicht von ausschlaggebender Bedeutung, sonst müßten die Blutzuckerzahlen noch viel größer sein als die bei den Kontroll-Zuckerstichtieren. Wie hoch der Zuckergehalt im Blute durch Retention steigt, zeigt der Wert von 0,7613°/₀ bei einem nicht narkotisierten Zuckerstichtier, bei dem aus irgendeinem Grunde kurze Zeit vor der Blutentnahme die Diurese und damit die Zuckerausscheidung versiegte. Mag also auch die Niere ihren Anteil an dem Ausbleiben der Glucosurie unter Chloralhydratwirkung haben, die einzige Ursache dieser Hemmung ist sie nicht.

Zur Entscheidung des zweiten Punktes war es notwendig zu untersuchen, ob andere Substanzen, die im Organismus an Glucuronsäure gepaart werden, ebenfalls eine Verminderung der Zuckerstichglucosurie bedingen. Sehr wahrscheinlich war es übrigens nicht, daß die Glucuronsäurepaarung eine wesentliche Rolle in der antagonistischen Wirkung des Chloralhydrats spielt. Denn der ähnlich, wenn auch schwächer wirkende Äthylalkohol wird nach O. Neubauer[1]) nur in ganz geringem Maße an Glucuronsäure gepaart. Ferner hat nach O. Löwi[2]) die Glucuronsäureentziehung nur einen ganz geringen indirekten Einfluß auf die Phlorizinglucosurie. Gleichwohl sollte auch die Möglichkeit der Herabsetzung der Zuckerstichglucosurie durch dieses Moment geprüft werden. Zu diesem Zwecke wurde Zuckerstichtieren Campher in Öl gelöst subcutan injiziert. Die Tatsache, daß Campher nicht erst wie das Chloralhydrat vor der Glucuronsäurepaarung reduziert wird, hat für die vorliegende Fragestellung wohl keinen Belang. Von drei gleichsinnig verlaufenen Versuchen führe ich einen an; er zeigt, daß der Campher die Zuckerstichglucosurie nicht herabsetzt, sondern, soweit sich das beurteilen läßt, eher steigert.

Versuch 33. Kaninchen 1900 g.

12. I. 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr 5 Min.

12 Uhr 4 ccm 25°/₀iges Campheröl.

12 Uhr 40 Min. 4 ccm 25°/₀iges Campheröl.

Harn vor der Operation alkalisch, trüb, zuckerfrei.

---

1) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **46**, 133.

2) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **47**, 56.

Harn von:

Zeit	Menge	Reaktion	Zucker	Zucker
12 Uhr 15 Min. bis 1 Uhr 15 Min.	14,5 ccm,	sauer	0,87 %	= 0,1262 g Zucker[1])
1 „ 15 „ „ 2 „ 15 „	9,2 „	„	4,00 „	= 0,3680 g „
2 „ 15 „ „ 3 „ 15 „	11,5 „	„	5,12 „	= 0,5888 g „
3 „ 15 „ „ 4 „ 15 „	10,0 „	„	7,26 „	= 0,7260 g „
4 „ 15 „ „ 5 „ 15 „	7,0 „	„	8,04 „	= 0,5628 g „
5 „ 15 „ „ 6 „ 15 „	4,0 „	„	6,14 „	= 0,2456 g „
	56,2 ccm			2,6174 g Zucker

Da nunmehr nachgewiesen ist, daß der erste Diskussionspunkt, die Beteiligung der Niere, nur als Teilerscheinung, der zweite, die Glucuronsäurepaarung, als belanglos im Mechanismus der Chloralhydratwirkung anzusehen ist, so kommt, soweit sich die Sachlage übersehen läßt, nur mehr ein direkter Antagonismus zwischen dem Chloralhydrat und Alkohol einerseits und dem beim Zuckerstich in vermehrter Menge von der Nebenniere ausgeworfenen Adrenalin andererseits in Betracht. Abgesehen von der antiglucosurischen Wirkung des Chloralhydrats ist nur noch eine bekannt, die einer Wirkung des Adrenalins entgegengesetzt ist: die gefäßerweiternde. Adrenalin macht Gefäßcontraction durch Reizung der peripheren Sympathicusenden, besonders im Splanchnicusgebiet, Blutdrucksteigerung; Chloralhydrat Gefäßerweiterung, Blutdruckabfall durch zentrale und bei großen Dosen auch periphere Wirkung. Bei dem Umstande, daß ein vasodilatatorisch wirkendes Mittel gleichzeitig die durch periphere Sympathicusreizung bedingte (L. Pollak[2]) Adrenalin-Zuckerstichglucosurie aufhebt, könnte man an einen inneren Zusammenhang zwischen Gefäßwirkung und glucosurischer Wirkung des Adrenalins denken.

In Verfolgung dieses Gedankenganges sollte zunächst untersucht werden, ob die Zuckerstichglucosurie mit Blutdrucksteigerung einhergeht, und wenn dies der Fall, ob diese Blutdrucksteigerung ebenso wie die Glucosurie durch Chloralhydrat aufgehoben werden kann. Beides trifft zu. In den ersten Versuchen wurde in der Art vorgegangen, daß bei dem mit Urethan narkotisierten Kaninchen der Zuckerstich ausgeführt und dann der Carotisblutdruck geschrieben wurde; diese Ver-

[1]) Die nach verschiedenen Methoden (Titration, Gärung, Polarisation) ermittelten Zuckerwerte zeigten untereinander nur sehr geringe Differenzen.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 376, 1909.

suche geben nur den absoluten Blutdruck nach dem Zuckerstich an, es fehlt aber der Vergleich mit dem Zustand vor dem Eingriff. In den späteren Versuchen wurde daher zunächst die Membrana obturatoria freigelegt und gespalten, die Carotis mit dem Blutdruckschreiber verbunden und nun bei seitlicher Lagerung des Kopfes die Piqûre ausgeführt. Gelingt so der Zuckerstich, kommt es zur Glucosurie, dann steigt auch der Blutdruck (s. Fig. 2).

Versuch 11. 18. I. Kaninchen 1550 g. Urethannarkose.

10 Uhr 15 Min. Präparation der Carotis.
30 „ Blasenkanüle.
55 „ Zuckerstich.

		Blutdruck in mm Hg
11 Uhr 5 Min.	Beginn der Blutdruckschreibung	90
25 „		94
55 „		104
12 Uhr 5 „		107
15 „		112
55 „		106
1 Uhr 15 „		118
55 „		114
2 Uhr 25 „		130
35 „		130
55 „		100
3 Uhr 55 „		82
4 Uhr 55 „		80

Harnzucker s. Tab. II, Versuch 11.

Versuch 9. 7. II. Kaninchen 2050 g.

11 Uhr 30 Min. bis 12 Uhr 5 Min. Zuckerstich, Verweilkatheter, Präparation der Carotis.

	Blutdruck in mm Hg
12 Uhr 20 Min.	148
35 „	118
1 Uhr 5 „	83
25 „	100
35 „	120
2 Uhr 5 „	100
35 „	90

Harnzuckerwerte s. Tab. I, Versuch 9.

Versuch 34. 30. III. Kaninchen 2000 g.

Spaltung der Membrana obturatoria, Blutdruckschreibung, Urethannarkose.

	Blutdruck in mm Hg	
10 Uhr 29 Min.	75	
35 „	68	10 Uhr 34 und 35 Min. Zuckerstich; keine Wurmspaltung
37 „	120	
38 „	105	
41 „	110	
55 „	80	
11 Uhr 5 „	48	
10 „	64	
25 „	40	
50 „	Exitus	

s. Fig. 2.

Versuch 14. 4. III. Kaninchen 2050 g.

Urethannarkose, Spaltung der Membrana obturatoria, Blutdruckschreibung.

	Blutdruck in mm Hg	
12 Uhr 8 Min.	90	
20 „	92	Zuckerstich links
22 „	135	
27 „	130	
28 „	74	Zuckerstich rechts
30 „	100	
35 „	106	
1 Uhr 20 „	90	
2 „ 20 „	86	
3 „ 20 „	104	
4 „ 20 „	150	

Harnzuckerwerte s. Tab. II, Versuch 14.

Versuch 35. 25. III. Kaninchen 2200 g.

Urethannarkose, Spaltung der Membrana obturatoria, Blutdruckschreibung.

	Blutdruck in mm Hg	
10 Uhr 37 Min.	50	
43 „	50—56	Wurmspaltung
44 „	43—62—46	1. Zuckerstich
46 „	42	2. Zuckerstich
50 „	50	
11 Uhr 0 „	60	
10 „	76	
20 „	86	
40 „	90	
12 Uhr 0 „	85	
50 „	70	
1 Uhr 0 „	68	
30 „	65	
2 Uhr 0 „	65	

Versuch 36. 27. II. Kaninchen 1700 g.

Urethannarkose, Spaltung der Membrana obturatoria, Blutdruckschreibung.

	Blutdruck in mm Hg	
11 Uhr 40 Min.	90	
45 „	85	
47 „	80	
48 „	74	Wurmspaltung
52 „	110—118	Zuckerstich
55 „	107	
12 Uhr 0 „	112	

Versuch abgebrochen, in der Blase 12 ccm Harn mit 0,75 % Zucker.

Versuch 37. 5. III. Kaninchen 1700 g.

Blutdruckschreibung, Verweilkatheter. Spaltung der Membrana obturatoria.

10 Uhr 15 Min. 0,85 g Chloralhydrat subcutan.
30 „ 0,42 g „ „

	Blutdruck in mm Hg	
11 Uhr 0 Min.	76	
5 „	80	1. Zuckerstich
9 „	54	2. „
35 „	48	
50 „	70	
12 Uhr 5 „	50	
50 „	46	

Harn von 11 Uhr 35 Min. bis 12 Uhr 5 Min. 16,9 ccm, alkal., zuckerfrei.
„ „ 12 „ 5 „ „ 1 „ 5 „ 2,4 „ „ „
„ „ 1 „ 5 „ „ 2 „ 5 „ 0,5 „ „ „
2 Uhr 5 Min.: Blutzucker 0,4067 %.

Versuch 20. 13. II. Kaninchen 2050 g.

10,2 ccm Alkohol, 10 Uhr 35 Min. bis 11 Uhr 5 Min. Zuckerstich, Blasenkanüle.

	Blutdruck in mm Hg
11 Uhr 10 Min.	90
12 „ 5 „	64
1 „ 5 „	50
2 „ 5 „	40

Harnzuckerwerte s. Tab. IV, Versuch 20.

Der Blutdruckanstieg nach dem Zuckerstich ist aus den angeführten Protokollen wohl ersichtlich. Gleich nach der Piqûre kommt es — mitunter nach einigen Schwankungen des Blutdrucks — zu einer beträchtlichen Blutdrucksteigerung. Darauf folgt nach etwa einer Stunde ein allmählicher Blut-

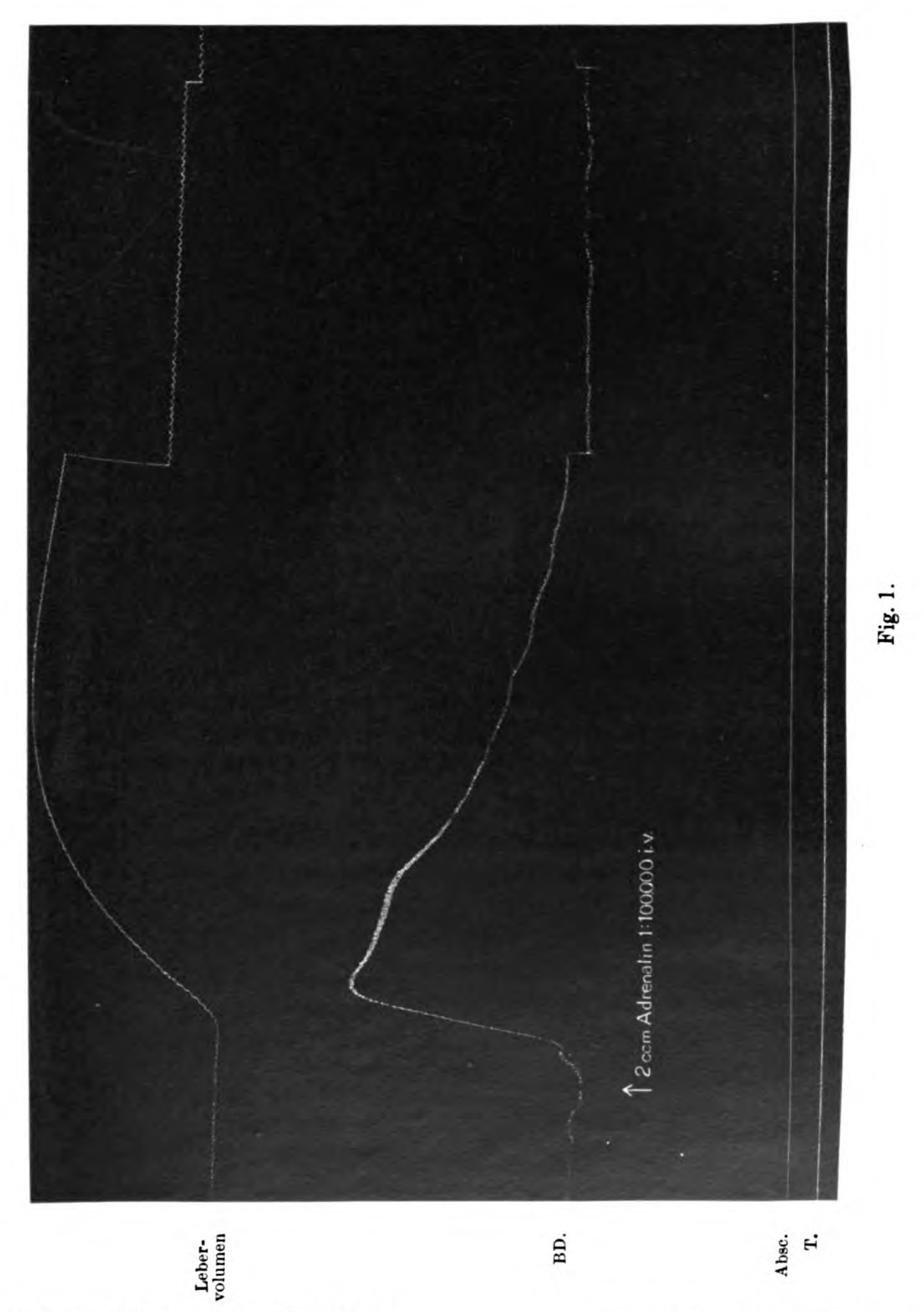


Fig. 1.



druckabfall und schließlich, entsprechend dem Maximum der Zuckerausscheidung, in der dritten Stunde ein neuer Anstieg. Bei Tieren, die mit Chloralhydrat oder Alkohol narkotisiert sind, bleibt der Blutdruckanstieg aus, in den Alkoholversuchen aber nicht immer, und zwar gerade in jenen Fällen nicht, in denen auch die Glucosurie nicht ausbleibt. Man könnte daran denken, daß die Erniedrigung des Blutdrucks durch Verminderung der Diurese die Zuckerausscheidung herabsetze. Da die Diurese aber, vor allem unter Chloralhydratwirkung, noch eine ganz gute, der Blutzuckergehalt nicht besonders hoch ist, ist diese Möglichkeit wenigstens als Hauptmoment abzulehnen (s. a. S. 353).

Für die Aufstellung der Ansicht, daß zwischen der Gefäßwirkung des Adrenalins und seiner zuckertreibenden Wirkung ein innerer Zusammenhang besteht, zu der man, abgesehen von denktechnischen Gründen, durch die Beobachtung des Antagonismus Zuckerstich



Blutdruck

Fig. 2.

(Adrenalin) und Chloralhydrat gelangen kann, ließe sich eine gewichtige Begründung beibringen, wenn es gelänge, nachzuweisen, daß ein anderes, vasokonstriktorisch wirkendes, dem Adrenalin im übrigen fernstehendes Gift gleichfalls zu Glucosurie führt[1]). Eine solche Substanz, die eine mächtige, zu Blutdrucksteigerung führende Vasokonstriktion hervorruft, ist das Bariumchlorid. Es greift peripher an den Gefäßen an, wahrscheinlich aber nicht an den Sympathicusendigungen, sondern an der glatten Muskulatur der Gefäße (Boehm[2]). Ich versuchte zunächst durch subcutane Injektion von Bariumchloridlösungen bei Hunden und Kaninchen Glucosurie zu erzeugen. Ein positiver Erfolg war zwar in einigen Fällen vor allem beim kohlenhydratreich gefütterten Kaninchen vorhanden, doch gab es auch viele Fehlversuche, indem kein Zucker oder ganz geringe Mengen ausgeschieden wurden. Die zuckertreibende Dosis steht der letalen nahe.

---

[1]) Es lag andererseits auch die Möglichkeit vor zu prüfen, ob ein nicht zur Alkoholgruppe gehöriges gefäßerweiterndes Mittel die Glucosurie verhindert. In dieser Absicht wurden an Zuckerstichtieren Versuche mit Natriumnitrit ausgeführt. Sie fielen negativ aus. Von sechs gleichartigen Versuchen führe ich unten einen an. Auffällig ist das negative Resultat nicht, zumal die Nitrite an sich schon Glucosurie erzeugen, vielleicht — wofür mir einiges zu sprechen scheint — infolge der durch die Methämoglobinbildung entstehenden Asphyxie.

Versuch 41, 23. II., Kaninchen 1750 g, Urethannarkose, Verweilkatheter, 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr Zuckerstich, Blutdruckschreibung.

Um 11 Uhr 30 Min., 12 Uhr 10 Min. und 12 Uhr 50 Min. je 1 ccm 5%ige Natriumnitritlösung i. v.

	Blutdruck in mm Hg	
Harn vor der Operation zuckerfrei.		
Harn von 12 Uhr bis 12 Uhr 30 Min. 3,2 ccm 0,31% Zucker		
Harn von 12 Uhr 30 Min. bis 1 Uhr 7,5 ccm 1,72% Zucker	12 Uhr 6 Min	140
Harn von 1 Uhr bis 1 Uhr 30 Min. 14,5 ccm 2,39% Zucker	1 Uhr	120
Harn von 1 Uhr 30 Min. bis 2 Uhr 9,5 ccm 2,85% Zucker	2 Uhr	83
Blutentnahme 2 Uhr, Blutzucker 0,3844%.		

Nebennieren fast frei von chromfärbbarer Substanz.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 8, 216.

Versuch 38. 3. III. ♀ Hund 12500 g.

11 Uhr 15 Min. katheterisiert; 78 ccm Harn, reduziert nicht, Citron 0,05 %.

11 Uhr 15 Min. 3 ccm 5 %ige Bariumchloridlösung subc. = 0,15 g $BaCl_2$.

11 Uhr 20 Min. Abgang weichen, aber geformten Stuhles.

12 Uhr 15 Min. katheterisiert, 14 ccm Harn, Nachreduktion, Citron 0,17 %.

1 Uhr 30 Min. katheterisiert, 23 ccm Harn, Nachreduktion, Citron 0,18 %.

1 Uhr 30 Min. 5 ccm 5 %ige Bariumchloridlösung subc. = 0,25 g $BaCl_2$.

3 Uhr 30 Min. katheterisiert, 54 ccm Harn, reduziert nicht.

5 Uhr 25 ccm Harn, spontan entleert, Nachreduktion, Citron = 0,12 %.

6 Uhr Salivation, katheterisiert, 40 ccm Harn, Nachreduktion, Citron 0,18 %.

Versuch 39. 23. I. Kaninchen 1550 g, Rübenfutter.

4 Uhr 10 Min. 77 ccm Wasser per os, Harn abgepreßt, alkalisch, trüb.

4 Uhr 20 Min. 0,5 ccm 2 %ige Bariumchloridlösung subc. = 0,01 g Bariumchlorid.

5 Uhr 45 Min. Abgang geformten Stuhls, Harn bis 8 Uhr 15 Min. 86 ccm, zuckerfrei.

Dasselbe Tier erhielt am Nachmittage des folgenden Tages 20 g Traubenzucker in 60 ccm Wasser.

25. I.

3 Uhr 45 Min. 75 ccm Wasser per os.

4 Uhr 30 Min. 1,5 ccm 2 %ige Bariumchloridlösung subc. = 0,03 g.

4 Uhr 45 Min. 25 ccm saurer Harn mit **1,6 %** Zucker.

5 Uhr Abgang geformten und flüssigen Stuhles.

4 Uhr 45 Min. bis 5 Uhr 15 Min. 11 ccm neutraler, trüber Harn, zuckerfrei.

5 Uhr 15 Min. bis 6 Uhr 30 Min. heftige Diarrhöe, Anurie.

7 Uhr 30 Min. werden 6 ccm Harn abgepreßt, **0,8 %** Zucker.

9 Uhr werden 9 ccm Harn abgepreßt, zuckerfrei.

Versuch 40. 22. I. Kaninchen 1700 g, gemischtes Futter.

12 Uhr 40 Min. 85 ccm Wasser per os.

3 Uhr 40 Min. 1 ccm 5 %ige Bariumchloridlösung subc. = 0,05 g.

3 Uhr 50 Min. massenhafte Diarrhöe, Anurie.

5 Uhr Anurie, 85 ccm Wasser per os.

6 Uhr Blutentnahme aus der Carotis, 0,3092 % Blutzucker.

6 Uhr 15 Min. Exitus unter den Erscheinungen der Dyspnoe, Abdominalgefäße sehr blutreich, in der Harnblase einige Tropfen zuckerreichen Harns.

Die Besprechung dieser Versuche soll nach Anführung einiger Experimente erfolgen, bei denen das Bariumchlorid in anderer Art beigebracht wurde. Bekanntlich ist es im Straub-

schen Laboratorium gelungen, durch Dauereinlauf stark verdünnter Adrenalinlösungen in eine Vene langdauernde Blutdruckerhöhung (Kretschmer[1]) und Glucosurie (Ritzmann[2]) zu erzielen. In ganz gleicher Weise versuchte ich am urethanisierten Kaninchen mit verdünnten Lösungen von Bariumchlorid und in einigen Versuchen mit verdünnten Strophanthinlösungen — Strophanthin wirkt nach Gottlieb und Magnus[3]) gleichfalls stark vasoconstrictorisch — Glucosurie zu erzielen. Zunächst war der Erfolg ein verblüffender. Bald aber zeigte sich, daß beim urethanisierten Tier intravenöser Dauereinlauf von physiologischer Kochsalzlösung einen ähnlichen, wenn auch etwas geringeren Effekt hat. Ähnliches hat vor kurzem Underhill[4]) beobachtet: das Urethan macht an sich unwirksame Adrenalindosen wirksam. Für die vorliegende Fragestellung wurde aber dadurch eine ganze Reihe von Versuchen ohne entscheidenden Wert. Weitere Versuche mußten so angeordnet werden, daß die Bedingungen für das Zustandekommen einer Glucosurie möglichst ungünstig gestellt wurden. Die Tiere durften nicht kohlenhydratreich gefüttert sein, die Urethannarkose war zu vermeiden, es mußte ferner womöglich an ein und demselben Tier die glucosurische Wirkung des Bariumchlorids erprobt und andererseits untersucht werden, ob auch eine gleichgroße oder größere Menge physiologischer Kochsalzlösung unwirksam sei. In dieser Weise ließ sich nun tatsächlich zeigen, daß das Bariumchlorid in Flüssigkeitsmengen gelöst, die an sich keine Glucosurie machen, eine zuckertreibende Wirkung besitzt. Freilich zeigte sich auch hier wieder, daß die glucosurisch wirkende und die letale Dose einander recht nahe stehen; oft überstehen übrigens die Versuchstiere die Infusion ohne dauernde Schädigung. In einigen Versuchen wurde auch der Blutdruck geschrieben.

Versuch 42. 31. I. Kaninchen 1900 g, am Tage vorher 20 g Traubenzucker in 60 ccm Wasser.

9 Uhr 15 Min. 1,9 g Urethan in 85 ccm Wasser. Versuchsanordnung nach Kretschmer, Blutdruckschreibung, Verweilkatheter.

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, 423, 1907.
[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 131, 1909.
[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 47, 137.
[4]) l. c.

Von 10 Uhr 45 Min. bis 11 Uhr laufen 15 ccm einer 2 %igen $BaCl_2$-Lösung in die Jugularvene.

Von 11 Uhr bis 11 Uhr 15 Min. laufen 9 ccm einer 2 %igen $BaCl_2$-Lösung in die Jugularvene.

Von 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 45 Min. laufen 13 ccm einer 2 %igen $BaCl_2$-Lösung in die Jugularvene.

Von 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr 15 Min. laufen 8 ccm einer 2 %igen $BaCl_2$-Lösung in die Jugularvene.

Harn von 9 Uhr 45 Min. bis 10 Uhr 45 Min. ist alkalisch, zuckerfrei.

Harn von 10 Uhr 45 Min. bis 11 Uhr 15 Min., 21,5 ccm, ist alkalisch, enthält 1,41 % = 0,3032 g Zucker.

Harn von 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 45 Min., 1,0 ccm, ist alkalisch, enthält 1,73 % = 0,0173 g Zucker.

Harn von 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr 20 Min., 8,3 ccm, ist alkalisch, enthält 1,57 % = 0,1303 g Zucker.

Um 11 Uhr 15 Min. Abgang von geformten und flüssigem Stuhl.

Um 11 Uhr 30 Min. Blutentnahme aus der Carotis, Blutzucker 0,3184 %.

Um 12 Uhr 23 Min. Exitus.

	Blutdruck in mm Hg
10 Uhr 45 Min.	100
46 „	100
48 „	142
50 „	160
57 „	150
11 Uhr 1 „	138
5 „	150
10 „	150
15 „	150
20 „	156

Versuch 43. 6. II Kaninchen 2000 g, kein Traubenzucker am Vortage, keine Narkose.

9 Uhr 30 Min. 100 ccm Wasser per os, Verweilkatheter, Versuchsanordnung zur intravenösen Dauerinfusion nach Kretschmer, ohne Blutdruckschreibung.

Von 10 Uhr bis 10 Uhr 30 Min. laufen 48 ccm physiologische Kochsalzlösung ein.

Von 11 Uhr 30 Min. bis 11 Uhr 45 Min. laufen 5 ccm 5 %iger Bariumchloridlösung ein.

Von 12 Uhr 15 Min. bis 12 Uhr 30 Min. laufen 5 ccm 5 %iger Bariumchloridlösung ein.

Harn von 10 Uhr bis 11 Uhr 30 Min. ist zuckerfrei.

Harn von 11 Uhr 30 Min. bis 12 Uhr, 19 ccm, reduziert und gärt, 0,2 % = 0,038 g Zucker.

Harn von 12 Uhr bis 12 Uhr 15 Min., 8 ccm, reduziert und gärt. 0,19% = 0,0152 g Zucker.

Harn von 12 Uhr 15 Min. bis 12 Uhr 30 Min., 2 ccm, reduziert und gärt, 0,31% = 0,0062 g Zucker.

Versuch 44. 5. II. Kaninchen 2500 g, kein Traubenzucker am Tage vorher.

2 Uhr 10 Min. 125 ccm Wasser.

2 Uhr 30 Min. bis 2 Uhr 45 Min. Versuchsanordnung zur intravenösen Dauerinfusion, Verweilkatheter, keine Blutdruckschreibung.

Von 3 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 30 Min. laufen 15 ccm physiologische Kochsalzlösung ein.

Von 3 Uhr 30 Min. bis 3 Uhr 45 Min. laufen 15 ccm physiologische Kochsalzlösung ein.

Harn von 2 Uhr 30 Min. bis 3 Uhr 15 Min., 59 ccm, alkalisch, zuckerfrei.

Harn von 3 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 45 Min., 42 ccm, sauer, zuckerfrei.

Harn von 3 Uhr 45 Min. bis 4 Uhr 35 Min., 62 ccm, sauer, zuckerfrei.

Am 9. II. wird das gleiche Tier 2400 g zu einem analogen Versuch mit intravenöser Dauerinfusion von Bariumchlorid verwendet.

Von 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 30 Min. laufen 19 ccm einer Lösung von 0,8% NaCl und 0,1% $BaCl_2$ ein.

Von 11 Uhr 30 Min. bis 11 Uhr 45 Min. laufen 23 ccm einer Lösung von 0,8% NaCl und 0,1% $BaCl_2$ ein.

Harn von 10 Uhr 45 Min. bis 11 Uhr 15 Min., 1,5 ccm, neutral, zuckerfrei.

Harn von 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 45 Min., 9,5 ccm, neutral, zuckerfrei.

Harn von 11 Uhr 45 Min. bis 12 Uhr 15 Min.,
39,5 ccm, neutral . . . . 0,34% = 0,1343 g Zucker

Harn von 12 Uhr 15 Min. bis 1 Uhr 15 Min.,
60 ccm, neutal . . . . 0,65% = 0,390 „ „

Harn von 1 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 15 Min.,
43 ccm, neutral . . . . 0,12% = 0,0516 „ „

0,5759 g Zucker

Harn von 3 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 45 Min., 15 ccm, neutral, zuckerfrei.

Von 11 Uhr 25 Min. an wird geformter, von 11 Uhr 40 Min. an breiiger Stuhl entleert, bei deutlich durch die Bauchdecken sichtbarer Peristaltik und lautem Kollern. Blutzuckergehalt um 1 Uhr 0,1648%.

Am 14. II. wird das gleiche Tier 2100 g nochmals zu einem Versuch mit intravenöser Dauerinfusion von physiologischer Kochsalzlösung verwendet. Von 3 Uhr bis 3 Uhr 15 Min. laufen 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung ein.

Von 3 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 30 Min. laufen 24 ccm physiologischer Kochsalzlösung ein.

Harn von 12 Uhr bis 3 Uhr, 98 ccm, neutral, zuckerfrei.

Harn von 3 Uhr bis 3 Uhr 30 Min., 5,2 ccm, neutral, zuckerfrei.

Harn von 3 Uhr 30 Min. bis 5 Uhr, 12,5 ccm, schwach sauer, zuckerfrei.

Intravenöse Dauerinfusion einer Bariumchloridlösung führt also auch beim kohlenhydratarm gefütterten Kaninchen ohne Urethannarkose zur Zuckerausscheidung. Auch hier sind Glucosurie und Vasoconstriction vereint; beim Einlauf einer Bariumchloridlösung in eine Vene bekommt man die gleiche Blutdruckkurve wie im Kretschmerschen Versuch mit Adrenalin, die übrigens auch der Blutdruckkurve beim Zuckerstichversuch ganz ähnlich ist. Es muß hier betont werden, daß die glucosurisch wirkenden Bariumchloriddosen bei subcutaner wie bei intravenöser Applikation nicht selten Dyspnoe verursachen. Bemerkenswert ist auch, worauf später noch zurückzukommen ist, daß die Leber der Bariumchloridtiere oft sehr blutreich ist. Es könnte demnach diese Glucosurie als eine durch Dyspnoe bedingte aufgefaßt werden, was aber für ihre Wertung ohne Bedeutung ist; läßt sich doch eine ganze Anzahl von Glucosurien in gleicher Art deuten (Strychnin, Curare, Kohlenoxyd u. a.). Nun hat Starkenstein[1]) kürzlich gezeigt, daß die Asphyxieglucosurie wie die Zuckerstichglucosurie als Folge eines über die Nebennieren ablaufenden Reizes anzusehen ist. Während meiner Untersuchungen haben sich eine Reihe von Momenten ergeben, die sich für eine Deutung auch der Zuckerstichglucosurie als einer asphyktischen verwerten lassen.

Bei der Nachbarschaft des beim Zuckerstich getroffenen Zentrums zum Atemzentrum ist es nicht überraschend, daß die Atmung unmittelbar nach der Piqûre und besonders auch auf der Höhe der Zuckerausscheidung einen veränderten Charakter zeigt; sie ist oft vertieft und verlangsamt, stertorös oder aber auch oberflächlich und sehr frequent. Der dyspnoischen Atmung entspricht zeitlich der Blutdruckanstieg, der sich daher dem Blutdruckanstieg bei der Erstickung durch mechanische oder andersartige Momente ungezwungen an die Seite stellen läßt. Bei den durch Sauerstoffmangel hervorgerufenen Glucosurien

[1]) l. c.

findet sich im Harn neben Zucker stets auch Milchsäure, und zwar Rechtsmilchsäure; sie müßte sich auch bei der Zuckerstichglucosurie im Harn nachweisen lassen. Um bei Versuchen, die in dieser Richtung angestellt wurden, Krämpfe, wie sie nach Wurmverletzung manchmal auftreten, mit Sicherheit zu vermeiden, wurde in mehreren Fällen nur der typische Zuckerstich ausgeführt, in einigen Versuchen auch ohne Narkose, um eine etwaige Narkosewirkung auszuschalten. Bei allen Tieren, deren Harn nach dem unter diesen Kautelen ausgeführten Zuckerstich auf Milchsäure untersucht wurde, war der Befund ein positiver. In einem Falle blieb nach dem Zuckerstich die Glucosurie aus; die Leber erwies sich als glykogenfrei, im Harn war Milchsäure vorhanden. Die Milchsäure wurde aus dem angesäuerten Harn im Lindschen Apparat quantitativ extrahiert, der Extrakt mit Blei behandelt; hierauf wurde entbleit und das Zinksalz der Milchsäure in der üblichen Art dargestellt; die Menge der Milchsäure wird dann entweder nach dem von Embden[1]) modifizierten Verfahren von v. Fürth und Charnaß in dem nicht weiter gereinigten Zinksalz bestimmt, oder es wurde das gereinigte Zinksalz gewogen und sein Krystallwasser- und Zinkgehalt bestimmt, oder es wurden beide Bestimmungsmethoden in verschiedenen Zinksalzportionen ausgeführt.

Versuch 45. 13. III. Kaninchen 1600 g.

20 g Traubenzucker am Tage vorher. Harn von 10 Uhr 15 Min. bis 3 Uhr 45 Min. 15 ccm. Milchsäure nach v. Fürth und Charnaß 0. 3 Uhr 40 Min. bis 3 Uhr 50 Min. Zuckerstich ohne Narkose, ohne Spaltung des Wurms. Keine Muskelkrämpfe, vertiefte Atmung.

Harn von 3 Uhr 45 Min. bis 8 Uhr 15 Min. 85 ccm mit 1,44% Zucker. Aus dem Harn werden 0,3295 g milchsaures Zink dargestellt; 0,3102 g wurden bei 109° getrocknet; Gewicht nach dem Trocknen 0,2700 g; Krystallwassergehalt demnach 12,64%; 0,041 g des wasserfreien Zinklactats geben beim Glühen 0,0131 g ZnO, also 32,6%. Es liegt also optisch-aktive Milchsäure vor, für die die entsprechenden berechneten Werte 12,9% und 33,1% sind.

Um 8 Uhr 15 Min. wird das Tier entblutet (Blutzucker 0,2233%) und die Leber (43 g) auf Milchsäure verarbeitet. Sie lieferte 0,082 g milchsaures Zink mit 11,4% Krystallwasser, nach v. Fürth und Charnaß 0,032 g Milchsäure.

---

[1]) Zit. nach O. Neubauer in Abderhaldens Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden. 1912.

Versuch 46. 1. III. Kaninchen 1700 g.

20 g Traubenzucker am 29. Februar.

11 Uhr 15 Min. 85 ccm Wasser per os.

11 Uhr 20 Min. bis 11 Uhr 35 Min. Zuckerstich ohne Narkose.

Harn von 11 Uhr 35 Min. bis 1 Uhr 30 Min. 18 ccm, zuckerfrei, enthält 0,0112 g Milchsäure (mit der modifizierten Methode v. Fürth-Charnaß bestimmt).

1 Uhr 35 Min. bis 1 Uhr 40 Min. wird, da der Harn zuckerfrei geblieben war, der Zuckerstich wiederholt. Keine Krämpfe.

Harn von 1 Uhr 30 Min. bis 2 Uhr 45 Min. 85 ccm mit 0,37% Zucker.

Harn von 2 Uhr 45 Min. bis 5 Uhr 45 Min. 19 ccm mit 0,6% Zucker.

Harn von 5 Uhr 45 Min. bis 7 Uhr 45 Min. 3,5 ccm zuckerfrei.

Blutzucker (8 Uhr) 0,1588%.

Der Harn von 1 Uhr 30 Min. bis 2 Uhr 45 Min. (85 ccm) liefert 0,3093 g Zinklactat, 0,118 g verlieren bei 109° getrocknet 12,66% an Gewicht (berechnet 12,9%), 0,0987 g wasserfreies Salz geben beim Glühen 0,0345 g ZnO, d. i. 34,1% (berechnet 33,1%).

Versuch 47. 6. III. Kaninchen 1950 g.

20 g Traubenzucker am Vortage.

10 Uhr 15 Min. 97 ccm Wasser per os.

10 Uhr 30 Min. bis 10 Uhr 40 Min. Zuckerstich ohne Wurmspaltung, keine Narkose.

Harn von 10 Uhr 30 Min. bis 5 Uhr 140 ccm, enthält viel Zucker und liefert 0,1257% Zinklactat mit 14,1% Krystallwasser.

Blutzucker 0,2376% um 5 Uhr.

Versuch 8. 16. II. Kaninchen 1760 g (s. Tab. I).

Zuckerstich und Wurmspaltung ohne Narkose.

In 33,8 ccm Harn, die 1,282 g Zucker enthalten, wird als Zinksalz dargestellte und nach v. Fürth und Charnaß bestimmte Milchsäure in der Menge von 0,0921 g gefunden.

Versuch 48. 26. II. Kaninchen 1950 g.

Am Vortage 20 g Traubenzucker.

11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 30 Min. Zuckerstich und Wurmspaltung, Drehbewegungen um die Längsachse.

Harn von 11 Uhr 30 Min. bis 5 Uhr 30 Min. mit 1,23 g Zucker liefert 0,2052 g gereinigtes Zinksalz.

In diesem ersten Teile meiner Mitteilung wurde auf die Beziehungen zwischen Vasoconstriction und Glucosurie und zwischen Asphyxie und Glucosurie hingewiesen; in dem folgenden Abschnitt soll erörtert werden, auf welchem Wege eine Veränderung der Gefäßweite zu Glucosurie führen könnte.

II.

Über Leberglucosurie.

Die Bedeutung der Leber für das Zustandekommen der Glucosurie wird im allgemeinen recht wenig gewürdigt; zumeist wird nur ihre Rolle als Glykogendepot in Betracht gezogen und untersucht, ob etwa eine bestimmte Glucosurieform vom Glykogen der Leber abhängig ist. So wichtig nun auch die glykogenhaltige Leber als Materialspenderin für viele Glucosurien ist, so ist ihre Bedeutung, von diesem Standpunkt aus betrachtet, doch nur eine sekundäre; Glucosurien, unmittelbar durch Störungen der Leberfunktion veranlaßt, sind aber nicht mit Sicherheit festgestellt.

Im vorangehenden Abschnitt ist dargelegt worden, wie verschiedene Glucosurien mit bestimmten Veränderungen der Gefäßweite, der Blutverteilung einhergehen. Der Frage, wie sich die Blutgefäße der Leber bei diesen Glucosurien verhalten, wurde experimentell noch wenig näher getreten. Es wäre sehr wohl denkbar, daß eine maximale Anämie und „Asphyxie" der Leber, wie sie etwa das auf das Splanchnicusgebiet so eminent vasoconstrictorisch wirkende Adrenalin bedingen könnte, Verhältnisse schafft, wie sie post mortem zum Zerfall des Glykogens zu Zucker führen. Eine derartige Anämie der Leber läßt sich auch rein mechanisch durch Unterbindung der Leberarterie und der Pfortader erzielen: diese Eingriffe führen aber in der Regel nicht zu Hyperglykämie und Glucosurie [Zillessen[1]), Macleod[2]), Falta und Priestley[3])]. Auch durch Stauung, also durch Abklemmung der Lebervenen ließe sich ein „asphyktischer" Zustand der Leber erzeugen. Es ist aber von vornherein klar, daß man die Lebervenen nicht einfach definitiv abbinden und dann das Abdomen schließen darf. Man muß vielmehr die Ligatur oder die Klemme, nachdem sie den Blutabfluß aus der Leber eine Zeitlang gehemmt hat, wieder öffnen; denn sonst würde, selbst wenn es infolge der Stauung in der Leber zu Glykogenolyse käme, der entstandene Zucker an Ort und Stelle liegen bleiben, er käme nicht oder nur äußerst langsam ins

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **15**, 387.
[2]) Americ. Journ. of Physiol. **22**, 373, 1908.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 47.

Blut. Nach diesem Plane wurden Versuche an Kaninchen und Hunden ausgeführt, von denen hier einige Protokolle folgen.

Versuch 49. 1. IV. Kaninchen 1600 g.

10 Uhr 2 g Urethan in 50 ccm Wasser per os.

10 Uhr 15 Min. wird die Blase abgepreßt, der Harn ist zuckerfrei.

10 Uhr 20 Min. wird das Abdomen geöffnet.

10 Uhr 25 Min. bis 10 Uhr 40 Min. bleiben die Venae hepaticae mit einer gekrümmten, um die konvexe Fläche der Leber geführten Klemme verschlossen; die Leberlappen schwellen stark an und färben sich tief dunkelrot.

10 Uhr 45 Min. Nach Lösung der Klemme ist das Abdomen wieder geschlossen.

1 Uhr 4 ccm Harn, etwas blutig, reduziert sehr stark; Gärung: 1,1 %.

5 Uhr 15 Min. 4,5 ccm Harn, etwas blutig, reduziert sehr stark; Gärung: 2,1 %.

Bis zum nächsten Morgen 9 Uhr werden noch 61,5 ccm Harn entleert; er ist wieder zuckerfrei.

Versuch 50. 4. IV. Kaninchen 1600 g.

11 Uhr 2 g Urethan in 50 ccm Wasser per os.

11 Uhr 25 Min. bis 11 Uhr 40 Min. bleiben die Lebervenen abgeklemmt.

Harn vor der Operation reduziert nicht.

11 Uhr 40 Min. bis 12 Uhr 40 Min. 7 ccm Harn, wenig blutig, reduziert stark, Gäruug: 0,5 %.

12 Uhr 40 Min. bis 2 Uhr 40 Min. 14 ccm Harn, wenig blutig gefärbt, reduziert stark, Gärung 0,5 %.

2 Uhr 40 Min. bis 4 Uhr 40 Min. 8 ccm Harn, spurweise blutig gefärbt, reduziert nicht.

Versuch 51. 2. IV. Hund ♂ 8200 g.

10 Uhr 15 Min wird in leichter Äthernarkose das Abdomen geöffnet.

10 Uhr 25 Min. bis 10 Uhr 40 Min. bleiben die Lebervenen abgeklemmt, dann wird das Abdomen geschlossen.

Katheter-Harn vor der Operation reduziert nicht.

Katheter-Harn von 10 Uhr 15 Min. bis 2 Uhr 10 Min. reduziert und gärt nur spurweise.

Katheter-Harn von 2 Uhr 10 Min. bis 5 Uhr 15 Min. reduziert nicht.

Derselbe Hund erhält am Abend 40 g Traubenzucker in 120 ccm Wasser mit der Schlundsonde, am nächsten Morgen werden wieder in leichter Äthernarkose von 11 Uhr 15 Min. bis 11 Uhr 40 Min. die Lebervenen abgeklemmt.

30 ccm Katheter-Harn von 8 Uhr bis 11 Uhr 15 Min. sind zuckerfrei.

15 ccm Katheter-Harn von 11 Uhr 15 Min. bis 2 Uhr 15 Min. enthalten 1,33 % Zucker (Gärung), nicht blutig.

10 ccm Katheter-Harn von 2 Uhr 15 Min. bis 6 Uhr sind zuckerfrei.

Vorübergehende Stauung durch Abklemmung der Lebervenen führt also bei genügend langer Dauer des Verschlusses und genügendem Glykogengehalt der Leber zu Glucosurie; damit ist zum ersten Male die Möglichkeit gezeigt, durch unmittelbare Beeinflussung des Lebergefäßsystems Zuckerausscheidung hervorzurufen. In Versuchen anderer Autoren veranlaßte die Abbindung der Leberarterie und der Pfortader, wie oben erwähnt, keine Hyperglykämie, keine Glucosurie; es ist hier aber der Einwand zu machen, daß in diesen Versuchen die Abklemmung nicht eine vorübergehende war, so daß auch etwa entstandener Zucker nicht ausgeschwemmt werden konnte; die Versuche wären unter Berücksichtigung dieses Umstandes zu wiederholen.

Der Befund, daß eine vorübergehende Stauung zu Glucosurie führt, hat übrigens ein klinisches Analogon. In der Literatur finden sich mehrfach Fälle mit folgendem Verlauf beschrieben: Ein Patient mit Stauungsleber und geringer Diurese reagiert auf ein günstig wirkendes Diureticum mit Abschwellung der Leber und Glucosurie [Neumann[1]), Klemperer[2])]. Während der Stauung kommt es nicht zur Glucosurie, einmal weil dann das Blut die Leber nur langsam durchströmt und den gebildeten Zucker nicht schnell genug in den allgemeinen Kreislauf bringt, ferner aber auch, weil durch die Stauung die Nieren meist mit geschädigt sind.

Konnte so gezeigt werden, daß eine veränderte Blutdurchströmung (vorübergehende Stauungshyperämie) der Leber zu Glucosurie führen kann, so war es weiter von besonderem Interesse, das Verhalten der Lebergefäße bei Glucosurien zu studieren, die nicht durch direkte, mechanische Wirkung auf die Lebergefäße bedingt sind. Über diesen Gegenstand liegen nur ganz vereinzelte Beobachtungen vor. So halten Schiff[3]) und Cl. Bernard[4]) eine vermehrte Durchblutung der Leber für eine Folge der Reizung des Zentrums durch den Zuckerstich und für die unmittelbare Ursache der Glucosurie;

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 36, 72.

[2]) cit. nach P. F. Richter, Zeitschr. f. klin. Med. 35, 463.

[3]) Untersuchungen über die Zuckerbildung in der Leber. Würzburg 1859. Zitiert nach Lépine: Le diabète sucré.

[4]) Physiol. et pathol. du syst. nerv 1, 476, 1858.

Cl. Bernard fand die Bauchorgane von Zuckerstichtieren im Zustande der Hyperämie. Cohnheim[1]) spricht dieser Beobachtung jede Bedeutung ab, und auch Naunyn[2]) glaubt sie durch seinen Befund widerlegen zu können, daß nach dem Zuckerstich die Gallenabsonderung sinkt, seiner Ansicht nach infolge einer verminderten Durchblutung der Leber. Die wichtigen, hierher gehörigen Befunde von Falta und Priestley[3]) sollen weiter unten besprochen werden. In meinen Zuckerstichversuchen bot die Leber einige Zeit nach der Operation das Bild einer Stauungsleber sehr verschiedenen Grades. Bei dem schon normalerweise nach Eröffnung des Abdomens sehr beträchtlichen Blutgehalt der Leber ist es aber nicht angängig, aus diesen Befunden sichere Schlüsse zu ziehen. Zur Gewinnung eines objektiven Urteils wurde versucht, die Volumänderungen der Leber unter dem Einfluß glucosurisch wirkender Agenzien durch Plethysmographie direkt aufzunehmen.

Dabei ging ich in der Art vor, daß ich beim Kaninchen, dessen stark gelappte Leber die Durchführung dieser Versuchsanordnung sehr erleichtert, einen Leberlappen, und zwar meist den am meisten nach links und etwas dorsalwärts gelegenen, von seinen bindegewebigen Verbindungen mit dem Zwerchfell und den benachbarten Leberlappen befreite. Der Stiel des so mobilisierten Lappens kam in den Ausschnitt einer kreisförmigen Glasplatte zu liegen. Über den Lappen wurde nun von einem Assistenten eine Glasglocke (mit Luftübertragung zu einer Mareyschen Trommel) gestülpt. Die Glasglocke war an ihrem aufgebogenen Rande mit einem breiten, umgeschlagenen Gummiringe versehen. Sobald nun Glasglocke und Glasplatte aneinandergepaßt waren, wurde der Gummiring so umgeschlagen, daß er beide fest verband. Alle Undichtheiten wurden mit Vaselin und Wattefasern beseitigt. Das so hergestellte Gehäuse wurde ins Abdomen versenkt und die Bauchdecken mit Klemmen geschlossen, bis auf eine Durchtrittsstelle für die Luftleitung des Instrumentes.

Die normale Leber schreibt unter diesen Umständen auf der Kymographiontrommel keine Pulse; dagegen sieht man, wenn alles gut adaptiert ist, eine schön ausgeprägte Atemkurve, die bei der Inspiration steigt, bei der Exspiration fällt[4]). Meist hält die Leber ihr Anfangsvolumen gut bei, nur selten kommt es durch Druck auf den Lappenstiel zu stärkerer

---

[1]) Vorlesungen über Pathologie.
[2]) Arch. f. experim. Pharmakol. u. Pathol. 3, 157, 1875.
[3]) l. c.
[4]) s. auch Thacher, Deutsch. Arch. f. klin. Med. 97, 104.

Volumenvermehrung durch Stauung. Es wurde gleichzeitig mit dem Volumen stets auch der Carotisblutdruck mit einem Quecksilbermanometer geschrieben, wenn nötig, auch die Jugularvene mit einer Injektionskanüle versehen.

Zunächst wurden Plethysmogramme der Leber unter Adrenalinwirkung ausgeführt. Injiziert man einem mit Urethan narkotisierten Kaninchen in eine Jugular- oder Mesenterialvene Adrenalin in Verdünnungen 1:100000 bis 1:10000, so sieht man nicht etwa, wie man bei der vasoconstrictorischen Wirkung des Adrenalins erwarten würde, eine Schrumpfung des Lebervolumens, sondern zunächst bei Beginn des Blutdruckanstieges meist keine Veränderung der Volumenkurve, dann aber, wenn sich der Blutdruckanstieg seinem Gipfel nähert oder ihn erreicht hat, eine Zunahme der Lebergröße. In manchen Fällen erfolgt der Kurvenanstieg erst, nachdem der Blutdruck etwas abgefallen ist. Besonders in diesen Versuchen geht manchmal der Volumenzunahme eine kleine Schrumpfung der Leber voraus. Die Volumenzunahme hat meist ihren Höhepunkt erreicht, wenn der Blutdruck zum Anfangsniveau zurückgekehrt ist; dann sinkt das Volumen allmählich zur Norm oder etwas unter diese ab. Die Volumenvermehrung ist oft eine sehr große. In dem auf Tafel II Fig. 1 wiedergegebenen Versuch steigt z. B. die Volumenkurve um 36 mm; es entspricht dies einer Volumenzunahme des 18 g schweren Leberlappens um 1 ccm; ein solcher Leberlappen enthält normalerweise höchstens 2 ccm Blut, so daß sich daraus eine Vermehrung der Blutmenge um mindestens 50% berechnen läßt. Subcutan injiziertes Adrenalin macht gleichfalls Leberschwellung.

Aus einer großen Versuchsreihe führe ich einige Protokolle an.

Versuch 52. Kaninchen 1600 g.

2 g Urethan. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene.

1. IV.		Blutdruck	Lebervolumenkurve[1])
11 Uhr 52 Min.		84	0
52 „	30 Sek. 2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
53 „		160	+ 13
54 „		86	+ 15

[1]) + mm über, — unter Normalhöhe.

I. IV.			Blutdruck	Leber-volumen-kurve
11 Uhr	55 Min.		66	− 3
	58 „		70	+ 3
	58 „	30 Sek. 2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.		
	59 „		162	+ 15
12 Uhr			100	+ 14,5
	1 „		64	− 7
	4 „		90	0

Versuch 53. Kaninchen 1950 g.

2,4 g Urethan. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene.

12. III.			Blutdruck	Leber-volumen-kurve
11 Uhr	20 Min.	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	100	0
	20 „ 15 Sek.		180	+ 3
	20 „ 30 „		160	+ 9
	21 „		135	+ 13
	21 „ 30 „		70	+ 8
	22 „		52	+ 2

Versuch 54. Kaninchen 2000 g.

2,5 g Urethan. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene (s. Fig. 4).

29. III.			Blutdruck	Leber-volumen-kurve
3 Uhr	15 Min.		77	0
	17 „	1 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	180	− 0,5
	18 „		135	− 3,5
	20 „		70	+ 2,5
	23 „		67	+ 4,5
	25 „		68	+ 1,5

Versuch 55. Kaninchen 2000 g.

Äthernarkose. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene.

9. IV.			Blutdruck	Leber-volumen-kurve
3 Uhr	39 Min.		80	0
	39 „ 30 Sek.	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
	40 „		139	− 0,5
	40 „ 30 „		76	− 0,5
	41 „		92	− 0,5
	42 „		86	0
	45 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	54	+ 3

9. IV.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
3 Uhr 45 Min. 30 Sek.	145	+ 2
46 „	114	+ 1
46 „ 30 „	60	+ 10
48 „	36	+ 5
48 „ 30 „	26	+ 4

Versuch 56. Kaninchen 2600 g.

Narkose mit 35 ccm 10 %iger Urethanlösung. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene (s. Tafel II).

22. III.	Blutdruck in mm H_g	Lebervolumenkurve
12 Uhr — Min.	90	0
— „ 30 Sek. 2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
1 „	180	+ 22
1 „ 30 Sek.	116	+ 36
2 „	90	+ 30
4 „	82	+ 10
5 „	84	+ 5
7 „	88	+ 1,5

Versuch 57. Kaninchen 2350 g.

2,9 g Urethan. Plethysmographie. Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene (s. Fig. 3).

17. III.	Blutdruck in mm H_g	Lebervolumenkurve
5 Uhr 45 Min.	66	0
45 „ 15 Sek. 2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
45 „ 30 „	152	+ 10
46 „ 30 „	90	+ 37,5
48 „	70	+ 23,5

Versuch 58. Kaninchen 3000 g.

10 Uhr 45 Min. 37,5 ccm 10 %iger Urethanlösung. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung (s. a. S. 375).

18. III.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
12 Uhr 18 Min.	102	0
18 „ 30 Sek. 2 ccm Adren. 1:10000 v. mesent.	103	+ 0,5
18 „ 40 „	108	+ 5
19 „	135	− 4
20 „	108	+ 4,5
22 „	101	+ 3
23 „	101	− 5

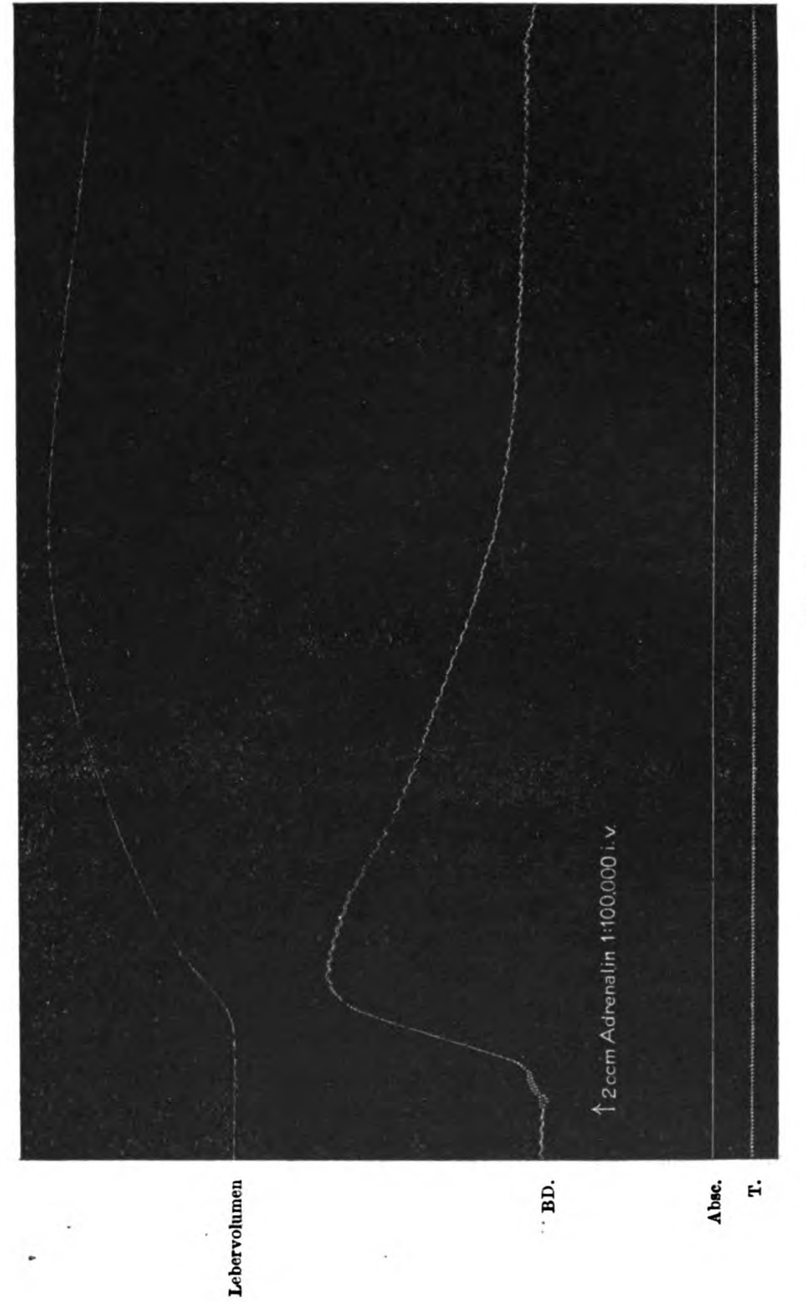


Fig. 3.

Versuch 59. Kaninchen 2900 g.

36 ccm 10 %iger Urethanlösung. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung.

23. III.		Blutdruck	Leber-volumen-kurve
1 Uhr 45 Min.		74	0
49 „ 30 Sek.	2 ccm Adren. 1:100000 v. mesent.	63	+ 1,5
50 „		90	+ 3
50 „ 30 „		76	+ 8
52 „		54	− 1

Versuch 60. Kaninchen 1500 g.

1,9 g Urethan. Leberplethysmographie. Blutdruckschreibung.

18. III.		Blutdruck	Leber-volumen-kurve
5 Uhr 35 Min.	4 ccm Adrenalin 1:1000 subcutan	62	0
36 „		62	0
37 „		68	0
37 „ 30 Sek.		76	+ 0,5
40 „		124	+ 1,5
42 „		136	+ 7,5
45 „		106	+ 3,5
50 „		81	+ 1,0
58 „		80	+ 0,5

Eine Größenzunahme der Leber kann auf verschiedene Weise zustande kommen, durch verminderten Abfluß in die Lebervenen oder durch vermehrten Zufluß aus Leberarterie oder Pfortader. Um in dieser Hinsicht einen Aufschluß zu erhalten, wurden die plethysmographischen Versuche wiederholt, während gleichzeitig die Pfortader oder die Leberarterie abgeklemmt wurde. Dabei zeigte sich, daß nach Abklemmnng der Pfortader Adrenalin keine oder höchstens ganz minimale Lebervolumenvermehrung hervorruft; das besagt, daß das Adrenalin entweder auf das Gefäßgebiet der Arteria hepatica gar nicht wirkt oder aber, daß die Volumschwankungen des arteriellen Gefäßsystems der Leber wegen seiner relativen Kleinheit für das Gesamtvolumen der Leber ohne Bedeutung sind.

Die Versuche nach Abklemmung der Leberarterie fielen nicht eindeutig aus; man bekommt dann meist nach Adrenalininjektion noch eine deutliche Volumenzunahme der Leber, manchmal bleibt aber auch diese typische Wirkung aus.



Fig. 4.

Versuch 59. Kaninchen 2900 g.

36 ccm 10 %ige Urethanlösung per os um 11 Uhr. Leberplethysmograpie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

23. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
12 Uhr 46 Min.	wird die Pfortader abgeklemmt		
21 „		72	0
21 „ 30 Sek.	1 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
22 „		120	0
25 „		76	0
25 „ 30 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.		
25 „ 45 „		160	— 0,5
27 „		105	+ 1
30 „		74	— 5
31 „		72	+ 1
32 „	Lösung d. Pfortaderklemme		
35 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	114	+ 1
40 „		74	+ 2
40 „ 30 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	142	+ 3
42 „		98	+ 13
45 „		74	— 1

Versuch 58. Kaninchen 3000 g.

10 Uhr 45 Min. 37,5 ccm 10 %ige Urethanlösung, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

18. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
11 Uhr 10 Min.	Pfortaderklemme		
25 „		130	0
26 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	206	+ 2
28 „		136	0
29 „		110	— 1
30 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	196	+ 1
31 „		126	— 1
32 „		108	0
36 „		115	0
37 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	202	+ 1
40 „		157	0
45 „	Lösung d. Pfortaderklemme[1])		
50 „		112	0
51 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	164	— 2
51 „ 30 Sek.		150	— 3
52 „		132	— 1
53 „		112	+ 6

[1]) Dabei steigt das Niveau der Volumenkurve um 18 mm an; das neue Niveau wird nun als Abszisse gleich Null gesetzt.

18. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
11 Uhr 54 Min.		104	+ 5
55 „		108	+ 3
57 „		111	− 1
57 „ 30 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	166	− 3
59 „		152	− 9
12 Uhr 2 „		136	− 1,5
4 „		105	+ 5
4 „ 30 „		103	+ 6
10 „ 30 „		109	− 2

Versuch 59. Kaninchen 2900 g.

11 Uhr 36 ccm 10%ige Urethanlösung, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene.

23. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
	Leberarterie abgeklemmt		
11 Uhr 50 Min.		104	0
55 „		106	+ 0,5
55 „ 30 Sek.	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	180	+ 0,5
57 „		98	− 1,5
59 „		93	+ 0,5
59 „ 30 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.		
12 Uhr		216	− 0,5
— „ 30 „		188	− 2,5
1 „		195	− 1,5
2 „		120	+ 11,5
3 „		95	+ 5,5
5 „	Leberarterienklemme gelöst		
6 „		90	+ 2,5
6 „ 30 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
7 „		170	+ 1,5
8 „		90	+ 6,5
10 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	210	+ 1,5
13 „ 30 „		108	+ 6,5
14 „		95	+ 5,5
15 „		86	− 3,5
19 „	Leberarterie abgeklemmt	96	− 0,5
20 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	172	− 2,5
21 „		100	− 0,5
23 „		93	− 2,5
24 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	208	− 2,5
26 „		100	+ 5,5
28 „		90	− 1,5
29 „	Leberarterienklemme gelöst	92	− 4,5

23. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
12 Uhr 30 Min.	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	154	+ 4,5
32 „		90	+ 0,5
36 „		92	− 3,5

Versuch 57. Kaninchen 2350 g.

4 Uhr 15 Min. 2,9 g Urethan, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung, Injektionskanüle in der Jugularvene (s. a. S. 377).

17. III.		Blutdruck	Lebervolumenkurve
	Leberarterie abgeklemmt		
5 Uhr 22 Min.		112	0
24 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	180	0
28 „		76	0
30 „		86	0
31 „	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.	174	0
34 „		86	− 1,0
35 „	2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	174	− 1,5
40 „		76	− 2,0
42 „	Leberarterienklemme gelöst		
45 „		66	− 1,5
45 „ 15 Sek.	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
45 „ 30 „		152	+ 8,5
46 „ 30 „		90	+ 36,0
48 „		70	+ 22,0

Aus der Wirkung der Pfortader- und Leberarterienabklemmung auf die Volumenveränderung der Leber durch Adrenalin läßt sich folgender Schluß ziehen: Die Größenschwankungen der Leber unter Adrenalineinfluß sind bedingt durch veränderten Blutgehalt der Pfortaderäste in diesem Organ, denn sie bleiben aus nach Unterbindung der Pfortader, kommen nach Unterbindung der Leberarterie meist noch zustande[1]).

Hier ist die Frage aufzuwerfen, ob die beobachtete Erweiterung der Pfortaderäste in der Leber eine aktive oder passive ist. Aktive Gefäßerweiterung unter Adrenalinwirkung ist nur für die Coronargefäße festgestellt [Langendorff[2])]. Die Gefäß-

[1]) Die Erscheinung, daß nach Unterbindung der Leberarterie die Volumenveränderungen der Leber manchmal kleiner sind oder später einsetzen und bisweilen ganz ausbleiben, will ich bei der infolge der nicht ganz einfachen Versuchsanordnung und der nicht völlig einheitlichen Resultate gebotenen Reserve noch nicht zu deuten versuchen.

[2]) Centralbl. f. Physiol. 21, Nr. 17, 1908.

dilatation, die man nach Adrenalininjektion in anderen vasomotorisch wenig innervierten Organen (Lunge, Gehirn) beobachtet, ist eine passive und kommt dadurch zustande, daß die Gefäße dieser Organe wegen ihres geringen Tonus dem erhöhten Druck nicht standhalten und dem durch die Contraction in den vasomotorisch reichlich innervierten Gefäßgebieten ausgetriebenen Blutmengen Raum geben. Ähnliches gilt von der Leber. Die isolierte Leber reagiert auf Adrenalindurchströmung mit Vasoconstriction; auch in meinen Versuchen an der Leber in situ kommt es gelegentlich zu einer kurzdauernden Gefäßverengerung, die in einem kleinen Wellental vor dem Volumenanstieg zum Ausdruck kommt. Das weitaus Überwiegende ist aber bei dieser Versuchsanordnung die Gefäßerweiterung, die durch Anschoppung des aus den Pfortaderwurzeln verdrängten Blutes verursacht wird. Das in die Leber gedrängte Blut fließt nicht in gleichem Ausmaß durch die Lebervene ab, staut sich an und bringt so das Organ zum Schwellen. Auffallend ist dabei nur noch die oft so beträchtliche Volumenzunahme, wenn man bedenkt, daß sich die Leber fast ausschließlich mit dem in den Pfortaderwurzeln vorhandenen Blut gefüllt halten muß, da frisches Blut durch die maximal verengten Arterien nur in ganz geringem Maße zuströmt.

So unerwartet diese hyperämisierende Wirkung des Adrenalins auf die Lebergefäße bei der vorausgesetzten Anämisierung der Leber war, so ist sie doch sehr wohl in Einklang zu bringen mit früheren Beobachtungen. Hierher gehören die interessanten Befunde von Falta und Priestley[1]). Diese Autoren fanden nach subcutaner Injektion großer Adrenalindosen bei Hunden Lunge, Gehirn, meist auch die Nieren und besonders die Leber mit Blut überfüllt, „die Leber so hochgradig, daß beim Anschneiden das dunkelgefärbte Blut herausfloß“. Falta und Priestley beobachteten im Verlauf dieser Versuchsreihe auch die Blutfüllung der Leber nach dem Zuckerstich. Sie konnten den Befund Bernards[1]) und Schiffs[1]) bestätigen, daß die Piqûre die Leber hyperämisch mache. Das ist nicht mehr überraschend, seit durch neuere Befunde, besonders die Kahns[1]), die Piqûre- als Adrenalinglucosurie erkannt wurde. In letzter Zeit hat Starkenstein[1]) nach-

[1]) l. c.

gewiesen, daß auch die Asphyxieglucosurie Folge einer zentralen Sympathicusreizung ist, also der Zuckerstich- und damit der Adrenalinglucosurie sehr nahe steht. Für die Erstickung ist Stauungsleber ein typisches Symptom. Ich selbst sah bei der Bariumchloridvergiftung bei der es auch zu Vasoconstriction im Splanchnicusgebiete kommt, die Leber sehr dunkel und blutreich.

Für die Erstickung läßt sich die Volumenzunahme der Leber sehr gut plethysmographisch beim Kaninchen durch Verengerung der Trachea zeigen. Schwieriger gelingt dies bei der Zuckerstichhyperämie, da diese Tiere die Eröffnung des Abdomens nicht lange überleben. Immerhin konnte ich wenigstens die den ersten Blutdruckanstieg entsprechende Volumenvermehrung graphisch registrieren.

Versuch 61. Kaninchen 1700 g.

21 ccm 10% ige Urethanlösung, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

28. III.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
4 Uhr 15 Min. Trachealklemme	44	0
16 „	78	+ 0,5
— „ 30 Sek.	80	+ 1,5
17 „	25	+ 3

Versuch 62. Kaninchen 2000 g.

9 Uhr 30 Min. 10% ige Urethanlösung, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung.

30. III.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
10 Uhr 35 Min.	68	0
— „ 30 Sek. Zuckerstich		
37 „	120	— 0,5
38 „	105	+ 2
40 „	104	+ 2
41 „	110	+ 1,5
55 „	80	+ 1
11 Uhr 5 „	48	— 0,5
50 „ Exitus		— 0,5

Die merkwürdige Erscheinung, daß eine so große Zahl von Glucosurieformen, die alle der Adrenalinglucosurie nahestehen, mit Leberhyperämie einhergehen im Verein mit der Tatsache, daß man durch Hyperämiesierung der Leber durch

Stauung Glucosurie erzeugen kann, legen den Gedanken an einen inneren Zusammenhang dieser Erscheinungen nahe. Ich möchte hierbei etwas weiter gehen als Falta und Priestley, die die Leberhyperämie nur als ein begünstigendes Moment für das Zustandekommen der spezifischen Adrenalinwirkung ansehen. Freilich muß der Zusammenhang zwischen Glucosurie und Leberhyperämie kein ganz unmittelbarer sein, so verlockend es auch ist, in der angeschoppten und dadurch aus dem Kreislauf einigermaßen ausgeschalteten Leber Vorgänge anzunehmen, wie sie ganz analog post mortem verlaufen und so die Stoffwechselwirkung des Adrenalins aus seiner Gefäßwirkung zu erklären[1]). So schlüssig die angeführten Versuchsergebnisse auch erscheinen, so bin ich mir wohl bewußt, daß sie die angenommene Art des Zustandekommens gewisser Glucosurien wohl wahrscheinlich machen aber nicht mit absoluter Sicherheit beweisen können; dagegen vermögen sie wohl die Bedeutung der Gefäße, im besonderen der Lebergefäße und damit auch der Leber, deren Wichtigkeit für die Entstehung der Glucosurie wohl zu lange nicht genügend gewürdigt wurde, in gebührendes Licht zu setzen[2]).

Nur einen Punkt möchte ich noch anführen und komme damit auf den Ausgangspunkt der vorliegenden Untersuchungen zurück. Im allgemeinen geht die Lebervolumenkurve der Blutdruckkurve parallel. Bringt man den Blutdruck durch Chloralhydrat zum Sinken, so nimmt auch das Lebervolumen ab. Beim chloralisierten Tier steigt dann der Blutdruck auf Adrenalin zwar auch noch an, erreicht aber nicht die absolute Höhe wie beim nicht chloralisierten Tier; dementsprechend schwillt auch die Leber weniger an. Es gilt dies freilich nur für größere Chloralhydratdosen, aber solche Dosen sind auch erforderlich zur Hemmung der Zuckerstichglucosurie. Es geht also verringerter Anstieg des Lebervolumens und Hemmung der Glucosurie nebeneinander her, und diese dürften daher auf Grund der bisherigen Versuchsresultate in einem Kausalitätsverhältnis stehen. Es wird also sowohl die blutdruckherabsetzende, sowie

[1]) Nebenbei sei bemerkt, daß unter den gewöhnlich verwendeten Versuchstieren das Kaninchen jenes ist, das den labilsten Gefäßtonus und zugleich den labilsten Kohlenhydratstoffwechsel hat.

[2]) s. a. E. Freund, Wiener klin. Wochenschr. 15, 463, 1902.

die damit zusammenhängende Wirkung auf das Lebervolumen, wenn auch nicht die einzige so doch wenigstens eine Teilursache der glucosuriehemmenden Wirkung des Chloralhydrats sein; eine gewisse Rolle könnte auch die infolge des gesunkenen Blutdruckes verminderte Durchblutung der Leber und verminderte Ausschwemmung des in der Leber unter dem Einfluß der Piqûre gebildeten Zuckers spielen.

Versuch 54. Kaninchen 2000 g.

2,5 g Urethan, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene.

29. III.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
3 Uhr 28 Min. 0,2 g Chloralhydrat i. v.	68	0
31 „	30—56	$-2^1/_2$, -5
32 „	57	-6
33 „ 0,18 g Chloralhydrat i. v.	19—28	$-9^1/_2$
37 „	26	$-10^1/_2$
41 „ 2 ccm Adrenalin 1:10000 i. v.	30	-11
42 „	30	-11

Versuch 52. Kaninchen 1600 g.

2 g Urethan, Leberplethysmographie, Blutdruckschreibung. Injektionskanüle in der Jugularvene.

1. IV.	Blutdruck	Lebervolumenkurve
11 Uhr 52 Min.	84	0
— „ 30 Sek. 2 ccm Adren. 1:100 000 i. v.		
53 „	160	$+13$
54 „	86	$+15$
55 „	66	-3
58 „	70	$+3$
12 „ 9 „ 10 Min. 1,2 ccm 10%ige Chloralhydratlösung i. v.		
11 „	60	-4
12 bis 13 Min. 0,4 ccm 10%ige Chloralhydratlösung i. v.		
16 Min. 2 ccm Adrenalin 1:100 000 i. v.	52	-6
— „ 30 Sek.	110	-2
17 „	80	$+9$
19 „	50	-4
22 „	48	-8
22 bis 23 Min. 1,5 ccm 10%ige Chloralhydratlösung i. v.		

1. IV.		Blutdruck	Leber-volumen-kurve
12 Uhr 25 Min.	.	40	— 11
27 „ 30 Sek.	2 ccm Adrenalin 1:100000 i. v.		
28 „		90	— 8
— „ 30 Sek.		78	— 4,5
32 „		40	— 7

Zusammenfassung der in den dargelegten Versuchsreihen gewonnenen Tatsachen.

1. Der Zuckerstich führt zu einer Blutdrucksteigerung, mit der eine Vergrößerung der Leber durch Hyperämie einhergeht. Die Blutdrucksteigerung, die veränderte Atmung und das Vorkommen von Fleischmilchsäure im Harn spricht für die Zugehörigkeit der Piqûreglucosurie zur Gruppe der durch Asphyxie veranlaßten Glucosurien.

2. Wie das Adrenalin, wenn auch in geringerem Grade, macht auch das vasoconstrictorisch wirkende Bariumchlorid Glucosurie. Chloralhydrat und Alkohol, die in großen Dosen Gefäßlähmung bewirken, heben die Zuckerstichwirkung auf den Blutdruck und die Zuckerausscheidung auf. Die antiglucosurische Wirkung dieser Mittel ist nur teilweise durch eine Retention von der Niere aus und gar nicht durch die Entziehung der zu ihrer Paarung mit Glucuronsäure erforderlichen Kohlenhydrate bedingt. Morphium wirkt beim Kaninchen weder der zuckertreibenden, noch der gefäßverengernden Wirkung des Zuckerstiches deutlich entgegen.

3. Plethysmographische Untersuchungen an der Leber zeigten eine Volumenzunahme der Leber durch Hyperämie unter Adrenalinwirkung und bei Erstickungsasphyxie. Das Lebervolumen steigt und fällt im allgemeinen mit dem Blutdruck. Chloralhydrat bringt den Blutdruck und das Lebervolumen zum Absinken.

4. Vorübergehende Hyperämie der Leber durch Abklemmung der Venae hepaticae mit folgender Aufhebung der Stauung verursacht Glucosurie.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

XVIII. Mitteilung.

Fortgesetzte Beiträge zur Funktion der Milz als Organ des Eisenstoffwechsels.

Von

Hans Vogel.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 30. Juni 1912.)

Mit 6 Figuren im Text.

Einleitung.

Beziehungen zwischen Milz und Blut sind schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Man hat der Milz sowohl hämatopoetische wie hämatolytische Funktionen zugeschrieben. Namentlich findet man die Meinung weit verbreitet, daß die Milz mit der Entstehung der roten Blutkörperchen zu tun habe, nicht allein im embryonalen Stadium, sondern auch im postfoetalen Zustande. Wäre tatsächlich die Milz ein Organ, zu deren Aufgabe es gehörte, die Blutkörperchenbildung zu regeln, so müßte beim milzlosen Tiere eine deutliche Änderung im Blutbilde, zum wenigsten nach der quantitativen Seite hin, zu konstatieren sein. Wie ich nachher in der Literatur zeigen werde, gibt es auch eine ganze Reihe von Angaben, dahingehend, daß bei milzlosen Tieren und Menschen die Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge geringer wie in der Norm ist, aber andererseits ist der Befund erhoben worden, daß die Entmilzung nicht allein keinen Einfluß auf die Zahl der Blutkörperchen im normalen Zustande hat, sondern auch nach

Blutentziehung die Blutregeneration ebenso rasch verläuft wie beim normalen Tiere. Das Vorliegende ist also durchaus widersprechend und nicht geeignet, ein klares Bild über die Beziehung zwischen Milz und Blutbildung zu verschaffen. Man könnte versuchen, den Widerspruch durch Annahmen zu beheben, die sich darauf gründen, daß die Milz gleichzeitig hämotopoetische und hämatolytische Funktionen haben soll. Wenn etwa die Größe beider Leistungen sich gerade aufheben würde, dann kann die Entmilzung ganz resultatlos verlaufen, aber die Erklärung durch diese Annahme hat etwas sehr hypothetisches. Wir sind in der Lage, auf Grund positiver Tatsachen zu den eigentümlichen Widersprüchen in der Literatur Stellung nehmen zu können.

Bei den vorausgehenden Arbeiten haben Ashers Schüler, Grossenbacher und Zimmermann, gefunden, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei. Die wesentliche Tatsache, die zu dieser Erkenntnis geführt hat, war die, daß unter den verschiedensten Bedingungen das milzlose Tier mehr Eisen ausscheidet als ein normales. Die Lehre von Asher ist seitdem durch die gründlichen Arbeiten von Bayer am Menschen bestätigt worden. Es ist nun sehr naheliegend, wenn man sich auf den Boden dieser Lehre stellt, die Annahme zu machen, daß die mitgeteilten widersprechenden Befunde in bezug auf den Einfluß der Milz auf die Blutkörperchenbildung gar nicht widersprechend sind, sondern beide richtig. Wenn nämlich ein entmilztes Tier in seiner Nahrung ungenügend Eisen erhält, ist es wegen des an und für sich großen Verlustes von Eisen besonders ungünstig gestellt und hat vielleicht nicht genug Eisen, um normale Blutkörperchenbildung leisten zu können. Dabei sei dahingestellt, ob nicht genug Eisen vorhanden ist für die Hämoglobinbildung, oder nicht genug Eisen, um an den Orten der blutbildenden Prozesse in dieselben einzugreifen. Andererseits wenn ein milzloses Tier reichlich in der Nahrung Eisen erhält, so wird bei dem großen Aufnahmevermögen der Leber und anderer Organe für Eisen hinreichend Eisen im Organismus aufgestapelt, um den Verlust der Milz in dieser Beziehung vollkommen auszugleichen. Mit Rücksicht auf diesen Gedankengang habe ich unter Leitung und Beihilfe von Prof. Asher untersucht, wie sich die Blutbildung bei normalem und

milzlosem Tier verhält, wenn beide Tiere gleichzeitig eisenarm ernährt werden. Auf Grund der neuen Lehre ließ sich die Vermutung aufstellen, daß ein milzloses und gleichzeitig eisenarm ernährtes Tier eine geringere Hämoglobinmenge, beziehentlich Blutkörperchenzahl haben werde, als ein normales.

Ehe ich den speziellen Plan und die Methodik der Arbeit schildere, will ich kurz über die wichtigsten, in der Literatur sich findenden Angaben berichten, die sich mit der Blutkörperchenzahl bei milzlosen Menschen und Tieren beschäftigen.

Literaturübersicht.

Schon im Altertum wurden Splenektomien ausgeführt und führten, weil keine sichtbaren Zeichen eines organischen Mangels sich finden ließen, zu der Ansicht von der Überflüssigkeit und Nutzlosigkeit der Milz, gleichwie heutzutage viel Streit ob dem „rudimentären Appendix" herrscht. Blutuntersuchungen vor Listers Zeiten sind wegen der mit der Milzexstirpation stets verbunden gewesenen mehr oder weniger schweren Sepsis nutzlos gewesen, da ja stets leukocytotische Blutveränderungen auftraten.

Tizzoni und Dastre fanden bei ihren Untersuchungen keinen Unterschied in bezug auf das Wachstum und die Entwicklung milzhaltiger und splenektomierter Tiere; da sie jedoch ihre Beobachtungen nur kurze Zeit ausführten, die längste Untersuchung wurde bei einer Katze vorgenommen und dauerte nur 4 Monate, so forderte dies zu Nachuntersuchungen heraus.

Grossenbacher, ein Schüler Ashers, wiederholte das gleiche Experiment und fand während des Verlaufes von 11 Monaten die gleichen Tatsachen bestätigt. Er schloß daraus mit Recht, daß die Milz nicht etwa wie Thyroidea und Thymus, die Entwicklung des jugendlichen Organismus in ganz bestimmten Beziehungen beeinflußt. In Beziehung auf den Eisenstoffwechsel, den er, ohne Nahrungsveränderung, durch Kotuntersuchung bei entmilzten und normalen Hunden verfolgte, kam er zu folgenden, für diese Arbeit grundlegenden Folgerungen: 1. Die tägliche Eisenausscheidung bei entmilztem, sonst aber normalem Hunde ist wesentlich größer als bei Hunden mit Milz. 2. Die größere Ausscheidung findet sich sowohl bei Fleischfütterung, als auch im Hungerzustande, kann also nicht etwa auf einer schlechten Nahrungsausnutzung seitens des entmilzten Tieres beruhen. 3. Die vermehrte Eisenausscheidung konnte noch 5 Monate nach der Entfernung der Milz festgestellt werden, wenn auch nicht mehr in so hohem Grade. Sie gehört demnach nicht zu den Erscheinungen, die etwa nach 4 bis 5 Wochen durch das Eintreten anderer Organe kompensiert werden können.

Laudenbach fand durch sehr exakte, durch Sektionen nachgeprüfte Versuche, daß bei entmilzten Hunden nach 2 Monaten eine starke Abnahme von Blutkörperchen und Hämoglobin vorhanden war. Diese

Erscheinungen begannen allerdings erst 2 Monate nach der Operation und der höchste Grad wurde im 4. Monat erreicht. Mit der Zeit regenerierte sich das Blut aber doch vollständig, es müssen also für die Milz vikariierend andere Organe eintreten, vor allem das Knochenmark, das bei den Sektionen sich stets an den Epiphysen als kirschrot erwies, ein sicheres Zeichen seiner hämatopoetischen Wirksamkeit.

Paton, Galland und Fowler kamen gemäß ihren Untersuchungen zu entgegengesetztem Resultat und fanden so gut wie keinen Einfluß der Milz auf die Blutbildung. Es soll sich die Zahl der roten Blutkörperchen nach Splenektomie nicht verändern, sondern nur eine ganz geringe Verminderung der eosinophylen Leukocyten zutage treten. Die Blutregeneration bei größerer Blutentziehung soll bei entmilzten Tieren gerade so schnell vor sich gehen, wie bei milzhaltigen.

Eine andere Methode schlugen Carrière und Vauverts ein, indem die Milz durch totale Gefäßligaturen ausgeschaltet wurde; sie fanden in Übereinstimmung mit Laudenbach Abnahme der Erythrocyten und des Hämoglobingehaltes während 5 bis 7 Monaten, Stillstand der Zahl der roten Blutkörperchen und des Hämoglobins im 7. und 8. Monat. Am Tage nach der Ligatur nimmt die Erythrocytenzahl zu und bleibt während 9 bis 10 Monaten konstant erhöht. Partielle Ligatur bewirkt zuerst Verringerung der roten Blutkörperchen, sehr bald wird aber wieder die Norm erreicht; die Leukocytenzahl wird anfangs vermehrt, kehrt aber in 8 Tagen wieder zur Norm zurück; der Hämoglobingehalt vermindert sich 2 Monate lang deutlich, findet dann aber wieder seine normale Höhe.

Die Funktionen der Milz zeigen sich aber in einem ganz anderen Lichte, wenn man deren Beziehung zum Eisenstoffwechsel betrachtet. Nasse hat zuerst histologisch spezifisch eisenhaltige Zellen in der Milz nachgewiesen. Es war diese Tatsache vor allem, welche Prof. Asher veranlaßte, durch Grossenbacher den erwähnten Versuch über den Eisenstoffwechsel bei entmilzten Hunden vornehmen zu lassen.

Zimmermann, ebenfalls ein Schüler von Prof. Asher, hat durch weitere Versuche die Bedingungen, unter denen die Milz in den Eisenstoffwechsel merklich eingreift, aufgeklärt. Auch bei diesen Versuchen schied der milzlose Hund mehr Eisen aus als der normale. Besonders groß war der Unterschied, wenn eine eiweißarme Nahrung gegeben wurde. Schon der normale Hund scheidet hierbei viel Eisen aus, weil er vom Eiweißbestand seines Körpers zehrt, d. h. eisenhaltiges Zellenmaterial, wohl in erster Linie Muskeleiweiß, zerfällt. Beim milzlosen Tier wird ein noch größerer Teil des im Stoffwechsel frei werdenden Eisens ausgeschieden. Durch subcutane Injektion von Eisen zeigte Zimmermann bei seinen Versuchstieren, daß sich die Eisenausscheidung nur so allmählich steigerte, daß der an und für sich bestehende Unterschied in der Eisenausscheidung zwischen einem normalen und einem entmilzten Hunde nicht weiter beeinflußt wird. Er wies nach, daß der durch

Pyrodin (Acetylphenylhydracin) bewirkte Blutkörperchenzerfall, beim normalen und entmilzten Hunde die Ausscheidung von Eisen steigert, bei letzterem diese aber etwas größer ist. Experimentell, durch ungenügende Eiweißernährung, bewirkter Zerfall von Körpersubstanz verursacht bei normalen und entmilzten Tieren eine starke Steigerung der Eisenausscheidung.

In neuerer Zeit gehen mit den Tierexperimenten Hand in Hand Untersuchungen, die bei Menschen vorgenommen werden konnten, bei denen durch Krankheit oder durch Unfall eine Entfernung der Milz indiziert war, und die die durch physiologische Experimente erwiesenen Tatsachen auch beim Menschen voll und ganz bestätigten. Untersuchungen von Friedrich Müller bei Hungerkünstlern bestätigten ebenfalls die durch Tierexperimente gewonnenen Erfahrungen.

Bayer hat in der Bonner chirurgischen Klinik bei einem splenektomierten und einem normalen Menschen Eisenstoffwechselversuche angestellt und dabei gefunden, daß unter den nämlichen Ernährungsbedingungen der milzlose pro Kilogramm Körpergewicht täglich deutlich mehr Eisen ausschied, also bewiesen, daß die Milz, was Asher für das Tier dargelegt, für den Menschen ein Organ des Eisenstoffwechsels ist und daß das im Körper frei gewordene Eisen aufgespeichert und so dem Organismus erhalten wird. Untersuchungen bei einem Patienten mit myeloischer Leukämie zeigten vermehrte Eisenretention des Kranken; durch Röntgenbestrahlung wurde beim normalen und leukämischen Menschen die Eisenausscheidung ganz bedeutend gesteigert, ein neuer Beweis für die Verarbeitung von frei gewordenem Eisen durch die Milz. Die Tatsache, daß bei diesem Versuch die Ausscheidung beim Leukämiker größer war, läßt sich durch erhöhte Eisenretention beim Kranken sehr gut erklären. Ein weiterer Versuch Bayers, nämlich die Röntgenbestrahlung bei normalen Menschen und splenektomiertem Bantikranken unter normalem Stoffwechsel, zeigte bei beiden die gleiche Erhöhung der Eisenausscheidung. Der gleiche Autor fand auch, daß, wenn nur die Milz den Röntgenstrahlen ausgesetzt wird, die Eisenausscheidung größer ist, als bei isolierter Bestrahlung der langen Röhrenknochen.

Interessante Blutbefunde zeigt auch ein von Regling und Klunker beobachteter Fall von Milzruptur mit nachfolgender Splenektomie. Es fand sich bald nach der Milzexstirpation eine starke Verminderung der roten und weißen Blutkörperchen, speziell die Lymphocytenzahl erfuhr eine immer größer werdende Verminderung, die aber später nicht nur zur Norm zurückkehrte, sondern sich noch stark vermehrte. Das Verhalten der roten Blutkörperchen und der herabgesetzte Hämoglobingehalt wiesen auf eine andauernde Anämie.

W. Hörz, der bei einem wegen traumatischer Milzruptur splenektomierten Patienten Blutuntersuchungen anstellte, fand: 1. entsprechend dem Blutverlust eine Verminderung der roten Blutkörperchen und des Hämoglobingehaltes; 2. eine mäßige Vermehrung der weißen Blutkörperchen; 3. etwa normale Mengen polynucleärer Leukocyten, beträcht-

liche Steigerung der Lymphocyten und der eosinophylen Zellen. Auch in diesem Falle zeigte sich absolut keine schädliche Folge der Milzexstirpation.

Eine Reihe interessanter Erfahrungen, die sich jetzt zwanglos der Auffassung, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, einfügen, haben Pugliese und seine Mitarbeiter veröffentlicht.

Von einigen Autoren wurde auf Grund von Tierversuchen angegeben, daß das entmilzte Tier eine erhöhte Widerstandskraft gegenüber Infektionen zeigte. Etwas Ähnliches war auch bei nachfolgender Untersuchung vorhanden, indem das Normaltier stark unter diarrhöischen Kotentleerungen litt, während der splenektomierte Hund bei der gleichen Nahrung und unter den nämlichen äußeren Verhältnissen fast vollkommen davon verschont blieb.

Die beiden Versuchshunde. Voruntersuchungen.

Die beiden Tiere, mit denen vorliegende Versuche ausgeführt wurden, waren beim Beginne der Experimente beide 9 Wochen alt, zwei kräftige, normal entwickelte Bernhardinerhunde, aus dem gleichen Wurfe stammend, das eine ein Männchen, das andere, das später wegen seines exquisit kräftigen Körperbaues als Versuchstier benutzt wurde, ein Weibchen. Es handelt sich vorerst darum, das normale Blutbild und den Hämoglobingehalt für jedes einzelne Tier kennen zu lernen, um erst nach deren festen Normierung die eigentlichen Versuche mit eisenfreier, resp. eisenarmer Nahrung zu beginnen. Vom 1. bis 12. April 1911 wurde dieser erste Teil der Arbeit ausgeführt. Nachfolgende Tabelle zeigt die Resultate der ersten Untersuchungsperiode.

Tabelle Ia.

Kontrolltier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Erythrocyten
1. V. 11.	5020	59	6 000 000
2.	—	59	5 000 000
3.	—	—	—
4.	—	63	5 200 000
5.	—	—	—
6.	—	60	5 200 000
7.	—	—	—
8.	—	68	5 600 000
9.	—	—	—
10.	—	68	5 200 000
11.	—	—	—
12.	—	69	5 400 000

Tabelle Ib.
Späteres Versuchstier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythrocyten
1. V. 11.	5700	60	7 600 000
2.	—	60	7 400 000
3.	—	—	—
4.	—	64	6 800 000
5.	—	—	—
6.	—	65	6 000 000
7.	—	—	—
8.	—	68	7 000 000
9.	—	—	—
10.	—	68	7 200 000
11.	—	—	—
12.	—	68	7 000 000

Es zeigte sich, daß anfangs die Untersuchungsresultate in bezug auf Hämoglobinmenge und Zahl der roten Blutkörperchen etwas schwankten, was wohl auf Mangel an Übung zurückzuführen war, doch kann man füglich beim Hunde A, dem späteren Normaltiere, durchschnittlich einen Gehalt von Hämoglobin von 68 annehmen, und eine Erythrocytenzahl von 5400000, während der Hund B, das künftige Versuchstier, die gleiche Hämoglobinmenge von 68 zeitigte, jedoch eine bedeutend größere Zahl von roten Blutkörperchen, nämlich 7000000, was wohl durch dessen viel kräftigere Konstitution zu erklären ist. So diente die erste Versuchsreihe zur Feststellung der normalen Verhältnisse in bezug auf das Blutbild und zugleich bot sie auch einen Fingerzeig zur Wahl des Versuchstieres.

Methodik der Untersuchungen.

1. Der Hämoglobingehalt. Dieser wurde mittels des Hämoglobinometers von Prof. Sahli gemessen, das selbst zu bekannt und dessen Anwendung zu einfach ist, als daß sie hier näher beschrieben zu werden brauchte. Das Blut wurde meistens der Schnauze entnommen, einige Male auch den Bauchhautgefäßen, um festzustellen, ob sich Differenzen zeigen würden. Da die Resultate sich jedoch stets gleichblieben, wurde schließlich die viel bequemere und einfachere Methode, den Stich in die Mundzahnfleischhaut auszuführen, beibehalten. Gewöhnlich wurde der Hämoglobingehalt zweimal nacheinander bestimmt — bei auseinandergehenden Werten auch öfters — und daraus das Mittel

angegeben, um die unvermeidbaren kleinen Fehlerquellen wenigstens zum Teil ausschalten zu können. Die Hunde, die bei der Blutentnahme flach zur Seite gelegt wurden, zeigten sich sehr willig, so daß später eine Beihilfe nicht mehr notwendig war. Da auf einem dunkeln Grunde das Auge die viel größere Licht- und Farbenempfindlichkeit besitzt, wurde beim Ablesen des Hämoglobingehaltes stets ein schwarzes Papier zum Umranden der Ablesestelle benutzt.

2. Feststellung des Erythrocytengehaltes. Hierzu diente die Thoma-Zeißsche Zählkammer. Mit dem Melangeur wurde das Blut sofort aufgesogen, dann sogleich Hayemsche Flüssigkeit nach Vorschrift dazugefügt und nach energischem Schütteln so viel Flüssigkeit ausgeblasen, bis der capillare Teil des Melangeurs durch den rötlichen Ampulleninhalt ersetzt war, die Spitze der Pipette abgewischt und dann die Mischung auf die Zählkammer gebracht und das Deckgläschen so fest aufgedrückt, bis sich die Newtonschen Farbenringe zeigten. Dann wurde das Präparat ca. eine Minute lang horizontal liegen gelassen, um das Senken der Blutkörperchen auf den Kammerboden zu erleichtern. Zur Zählung erwies sich eine mittlere Vergrößerung (Leitz Nr. 5) am geeignetsten. Stets wurden mehrere Präparate verfertigt und das mittlere Ergebnis notiert.

3. Zählung der Leukocyten. Es wurde die von Thoma angegebene Methode hierzu benutzt. Als Verdünnungs- und Färbungsflüssigkeit diente eine $^1/_3\,^0/_0$ige Lösung von Eisessig mit Methylenblau (1 ccm Eisessig, 80 ccm destilliertes Wasser und 20 ccm Methylenblau).

4. Wägung. Alle 8 bis 10 Tage wurde bei beiden Hunden eine möglichst exakte Wägung vorgenommen zur Kontrolle, ob das Wachstum normal fortschreite und um zu sehen, ob die an ihnen vorgenommenen Versuche und Eingriffe alle starke Spuren hinterließen. Es zeigte sich aber, daß die physiologische Entwicklungsperiode in keinerlei Weise beeinflußt wurde, im Gegenteil war am Schlusse der Beobachtungszeit, Ende September 1911, das entmilzte Tier dem Normaltier an Größe und Kräften weit überlegen.

Eisenfreie Nahrung, Haltung und Pflege der beiden Hunde.

Da der Versuchsplan besonders darin bestand, einen normalen und einen milzlosen Hund bei eisenarmer Nahrung auf

die Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge zu untersuchen, mußte vor jedem Eingriff eine Untersuchung darüber stattfinden, wie sich beide Tiere auf bloße eisenarme Nahrung verhielten. Am 12. V. 1911 begann die eisenarme Ernährung, zu der ein Gemisch von Milch, Zucker, Stärke und Schmalz verabreicht wurde, alles zusammen zerrieben und dann in einem Aluminiumkessel gekocht, um ja etwaige Eisenbeimischung, wie das bei eisenhaltigem Kochgeschirr nicht zu vermeiden gewesen wäre, auszuschalten. Da Milch nur einen ganz geringen Prozentsatz von Eisen enthält, Zucker, Stärke und Schmalz jedoch gar keinen, so kann man eigentlich füglich von einer eisenfreien Ernährung sprechen. Die Hunde hatten in der ersten Zeit der veränderten Ernährungsweise an sehr starker Diarrhöe zu leiden, ohne jedoch an Staupe erkrankt zu sein. Besonders war es das Normaltier, das davon ergriffen wurde, während beim Versuchstier, namentlich nach der Milzexstirpation, dieser Zustand sich schnell besserte. Beide Hunde zeigten keineswegs nach der veränderten Fütterung irgendeine Änderung in ihrem allgemeinen Verhalten, sie waren stets munter und das Wachstum blieb die ganze Beobachtungszeit hindurch (5 Monate lang) durchaus ein normales. Die zwei Tiere wurden gesondert in einem kleinen Hofe gehalten, um die eisenarme Ernährung möglichst peinlich aufrechtzuerhalten, stets wurde von Zeit zu Zeit das Futter nachkontrolliert und dessen Zubereitung überwacht, ebenso die Konsistenz des Kotes nachgesehen. Das Futter wurde in möglichst reichlicher Weise verabfolgt, um die Tiere ja in guter Kondition zu erhalten.

Die Untersuchungsergebnisse mit eisenarmer Nahrung zeitigten folgende Befunde.

Tabelle IIa zeigt den Einfluß von eisenarmer Nahrung auf das Blutbild, auf das sie geradezu wie ein Reiz ihre Wirkung ausübt, steigt doch der normale Hämoglobingehalt von 70 auf 79%; und vermehren sich die Erythrocyten um ein beträchtliches (von 5200000 normal bis zu 6600000). Der Einfluß des Futters macht sich schon in etwa 10 bis 12 Tagen bemerkbar und erreicht in 14 Tagen, nach der Nahrungsänderung, seinen Höhepunkt, um dann, wie diese Tabelle deutlich zeigt, langsam abzuklingen und zur Norm zurückzukehren.

Tabelle IIa.
Normaltier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythro-cyten	Leuko-cyten
13. V.	—	—	—	—
14.	—	—	—	—
15.	6900	70	5200000	1600
16.	—	—	—	—
17.	—	70	5400000	1900
18.	—	—	—	—
19.	—	—	—	—
20.	—	70	5600000	1800
21.	—	—	—	—
22.	—	—	—	—
23.	6500	72	5600000	1900
24.	—	—	—	—
25.	—	—	—	—
26.	—	—	—	—
27.	—	75	5800000	1900
28.	—	—	—	—
29.	6250	78	6200000	1900
30.	—	—	—	—
31.	—	79	6600000	2100

Tabelle IIb.
Versuchstier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythro-cyten	Leuko-cyten
13. V.	—	—	—	—
14.	—	—	—	—
15.	7200	70	7400000	2000
16.	—	—	—	—
17.	—	70	7200000	1900
18.	—	—	—	—
19.	—	—	—	—
20.	—	70	7000000	2000
21.	—	—	—	—
22.	7250	73	7600000	2200
23.	—	—	—	—
24.	—	—	—	—
25.	—	—	—	—
26.	—	—	—	—
27.	—	73	7600000	2200
28.	—	—	—	—
29.	—	75	7800000	2463
30.	—	—	—	—
31.	7260	78	7800000	2400

Ganz in Übereinstimmung mit Tabelle IIa zeigt auch vorliegende Versuchsreihe die gleichen Verhältnisse, indem auch hier der Wert des Hämoglobins in der gleichen Zeitdauer steigt

und sich von 70 auf 78% vermehrt. Die Zunahme der roten Blutkörperchen zeigt sich jedoch bei dem Versuchstier nicht so eklatant wie beim Normaltier, erhöht sie sich ja nur um 400000 (7400000 in der Norm gegen 7800000 nach 14tägiger Dauer von Verabreichung von eisenarmer Kost). Im Vergleich zu dem Kontrolltier, dessen Vermehrung der Erythrocytenzahl 400000 betrug, scheint oben erwähnte Zahl ziemlich gering, jedoch scheint mir das seine Erklärung darin finden zu können, daß bei dem Versuchstier schon in normalem Zustande die Zahl der roten Blutkörperchen ihr physiologisches Maximum erreicht hatte, so daß dieses selbst durch einen kräftigen Reiz nur wenig mehr erhöht werden konnte.

Deutlich zeigt sich hier aus beiden Tabellen der Einfluß einer eisenarmen Nahrung, die direkt als Reiz auf die Gewebe wirkt und die an der Blutbildung beteiligten Organe, Milz und Knochenmark, zu einer erhöhten Tätigkeit veranlaßt, wahrscheinlich um das dem Körper mangelnde Eisen, dessen Bedürfnis durch den, wenn auch geringen Eisengehalt der gewöhnlichen Nahrung gedeckt wurde, zu ersetzen. Hierdurch kommt es zur Überproduktion von Erythrocyten, deren Eisen der Organismus sich selbst liefert, eine Tatsache, die z. B. in dem physiologischen Fettabbau bei Hungerzuständen sein Analogon hat. Mit der Steigerung der roten Blutkörperchen geht eine leichte Vermehrung der Leukocyten Hand in Hand, nämlich beim normalen Tiere von 1600 auf 2100, beim späteren Versuchstiere von 2000 auf 2400.

Die Operation.

Die Wahl, welcher von den beiden Hunden splenektomiert werden sollte, fiel anfangs etwas schwer, da beide sich des besten Gesundheitszustandes erfreuten und von dem Vorversuch sehr wenig angegriffen wurden. Da jedoch das Weibchen ein höheres Gewicht aufwies, so wurde es als Versuchstier bestimmt und schon am 1. VI. 1911 die Milzexstirpation vorgenommen. Es sei mir gestattet, mit kurzen Worten auf dieselbe näher einzugehen.

Der Hund befand sich damals in einem Alter von zirka 4 Monaten und wog am Operationstage rund 7300 g. Eine Stunde vor der Operation wurde an ihm eine subcutane Mor-

phiuminjektion vorgenommen, um das lästige Drängen bei den Vorbereitungen zu vermeiden und die später folgende Äthernarkose zu erleichtern. Die Wirkung des Narkoticums trat innerhalb einer Viertelstunde ein und das Versuchstier verhielt sich vollkommen ruhig und ließ alle notwendigen Zurichtungen, wie das Festbinden auf den Operationstisch, das Abrasieren der Haare und die Desinfektion der Haut, bereitwilligst über sich ergehen. Der Operationsstich wurde so gut wie möglich aseptisch hergerichtet, indem er mittels Sublimat 1 : 1000 und einer 1%igen Lysollösung aufs peinlichste gereinigt wurde. Dann wurden sterile Tücher darüber ausgebreitet, der Hund festgebunden und mit aseptischer Leinwand bedeckt. Durch Äthernarkose wurde das Tier in vollkommenen, während der ganzen Operation andauernden ruhigen Schlaf versetzt. Ein etwa 10 cm langer Hautschnitt wurde in der Linea alba vom Processus xiphoideus an nach abwärts ausgeführt und gewährte einen genügenden Spielraum zur Exstirpation. Sofort wurden die Hautgefäße durch doppelte Ligaturen unterbunden, der Zusammenhang zwischen Magen und Mesenterium aufs peinlichste gelöst und das Organ ohne große Blutung entfernt und gemessen. Die prolabierenden Eingeweide wurden gründlich abgespült und sodann reponiert, dann das Peritoneum doppelt genäht und die ziemlich kräftige Bauchmuskulatur durch eine fortlaufende Naht geschlossen. Die Haut wurde mittels getrennten Nähten, die ziemlich dicht nebeneinanderstanden, aufs gründlichste wieder vereinigt und die Operationswunde mit steriler Gaze bedeckt und durch einen Collodiumverband gegen die Außenwelt geschützt. Es sei noch bemerkt, daß bei der Operation besonders auf eine bei Hunden gelegentlich vorkommende Nebenmilz gefahndet wurde, jedoch erfolglos, um ja damit oft zusammenhängenden Irrtümern und falschen Resultaten aus dem Wege zu gehen.

Maße der exstirpierten Milz:

Länge 12,2 cm;
größte Breite 4,5 cm;
kleinste Breite 3,1 cm;
Dickendurchmesser 1,2 cm;
Gewicht 25 g.

Also eine vollkommen normale, im Verhältnis zu der Länge des Tieres (Schwanz nicht gerechnet 54 cm) eher kleine Milz. Konsistenz, Brüchigkeit und das makroskopische Schnittbild zeigten die übliche Zeichnung.

Gewicht vor der Operation 3700 g,
Gewicht nach der Operation 3660 g.

Leider heilte die Wunde infolge Beleckung und Zerreißung des Verbandes durch den Genossen, das Normaltier, nicht per primam und es erfolgte eine oberflächliche Hauteiterung, welche auch im Blutbild mittels einer leichten Leukocytose Ausdruck fand, ohne jedoch das Allgemeinbefinden des entmilzten Tieres zu beeinflussen, blieben doch Freßlust, Verdauung, Exkremente und Benehmen stets die gleichen, und die Temperatur zeigte bei einer Messung nach 4 Tagen kein Anzeichen von Fieber. Am 7. Tage nach der Operation wurden die Nähte entfernt und die Wunde der trockenen Heilung überlassen.

Einfluß der Milzexstirpation auf das Blutbild bei eisenarmer Nahrung.

Am gleichen Tage, wo die Nahtentfernung vorgenommen wurde, erfolgte auch die erste Blutuntersuchung beim Versuchstier, welche, obgleich nach der Literaturangabe ein Sinken des Hämoglobingehaltes zu erwarten war, einen solchen Tiefstand zeigte, daß ich zuerst an irgendwelche Fehlerquelle glaubte und erst nach 4maligem gleichbleibenden Resultat die unbestrittene Tatsache feststellen konnte, daß innerhalb dieser kurzen Zeit der Hämoglobinwert um fast $^1/_3$ seiner Höhe gefallen war (von 78$^0/_0$ am 30. V. auf 56$^0/_0$ am 7. VI.) und daß zugleich die Zahl der roten Blutkörperchen um weniger als die Hälfte sich vermindert hatte (von 7800000 auf 3200000). Leider konnte wegen der Eiterung der Einfluß der Splenektomie auf das Verhalten der weißen Blutkörperchen, welche in Übereinstimmung mit den Erythrocyten eine Leukopenie zeigen sollten, im Anfang nicht nachgewiesen werden, fand ich ja gerade das Gegenteil, eine geringgradige Vermehrung (von 2400 auf 3100). Jedoch scheint mir dies dennoch für eine, wenn auch relative Leukopenie zu sprechen, indem gemäß der Eiterung eine viel stärkere Vermehrung der weißen Blutkörperchen hätte da sein sollen, wenn nicht eben ein splenektomiertes Tier dieselbe er-

litten hätte. Da die einen Autoren, so meistens Regling und Klunker (vide Literaturangabe), eine Verminderung der Leukocyten fanden, andere wie Hörz das Gegenteil, so bleibt die Frage noch offen, jedoch scheint mir mein Befund, wobei die Zahl der weißen Blutkörperchen nach Ablauf der Eiterung stark abnahm, eher für das erstere zu sprechen.

Die Bestimmung von Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge während einer Periode von 3 Wochen nach der Milzexstirpation zeigte, daß dieser Eingriff eine deutliche und bleibende Anämie zur Folge hatte. Denn 20 Tage nach der Operation — nur um die Schlußresultate der Tabelle IIIa zu besprechen — betrug die Blutkörperchenzahl nur 3 200 000, der Hämoglobingehalt 60. Meine Beobachtung schließt sich denjenigen als eine positive an, wo die Milzexstirpation von Einfluß auf die Zusammensetzung der Blutes ist. Zum Unterschied von früheren Beobachtungen ist aber die meinige keine zufällige, sondern eine, die auf Grund experimenteller Voraussetzungen vorausgesagt werden konnte. Denn wenn die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels ist, bestimmt Eisen, welches im Stoffwechsel frei wird, dem Organismus zu erhalten, so daß das Eisen wieder verwertet werden kann, so muß ein milzloses Tier, welches in der Nahrung kein oder zu wenig Eisen erhält, besonders ungünstig gestellt sein. Dann wird eine Funktion, an welcher das Eisen beteiligt ist, die Regeneration der Blutkörperchen, darniederliegen, weil täglich viel Eisen unbenutzt dem Körper verloren geht, für Ersatz aber nicht genügend gesorgt ist. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sprechen zugunsten der Richtigkeit dieser Annahmen. Ob in all denjenigen Fällen der Literatur, wo das Fehlen der Milz Anämie oder verlangsamte Blutregeneration verursachte, die gleichen Bedingungen herrschten, welche ich in meinen Versuchen verwirklicht hatte, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Es ist immerhin wahrscheinlich, doch gibt es noch andere Möglichkeiten: Unterwertigkeit des Knochenmarks, geringe Eignung anderer Gewebe Eisen aufzustapeln und noch andere Momente. Den sichern Beweis, daß in meinen Experimenten die Eisenarmut der Nahrung die einzige Ursache für das Zutagetreten der fehlenden Milzfunktion war, werde ich nachher führen.

Tabelle IIIa.
Splenektomiertes Tier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythro-cyten	Leuko-cyten
1. VI.	7300	78	7 800 000	2400
2.	—	—	—	—
3.	—	—	—	—
4.	—	—	—	—
5.	—	—	—	—
6.	—	—	—	—
7.	—	55, 56, 56, 56	3 200 000	3100
8.	—	50	3 200 000	2800
9.	—	—	—	—
10.	6050	60	3 400 000	2900
11.	—	—	—	—
12.	—	60	3 600 000	2800
13.	—	—	—	—
14.	—	60	3 400 000	2700
15.	—	—	—	—
16.	—	60	3 400 000	2500
17.	—	—	—	—
18.	—	60	3 200 000	2500
19.	—	—	—	—

Obenstehende Tabelle dient zur Übersicht über die Verhältnisse; besonders sei noch auf die Hämoglobinkurve hingewiesen, welche dem Schlusse vorliegender Arbeit beigefügt ist.

Es folgt aus vorliegender Versuchsreihe, daß, was vielleicht als Einwand geltend gemacht werden könnte, nämlich der rapide Abfall von Hämoglobin und Erythrocyten, welcher auf Rechnung des Blutverlustes geschrieben werden müßte, unberechtigt ist, denn wenn dies der Fall gewesen wäre, hätte 1. die unbeträchtliche Blutung keinen solchen Tiefstand der roten Blutkörperchen des Hämoglobins bewirken können, 2. hätte eine schnelle Blutregeneration eintreten müssen. Dies war jedoch keineswegs der Fall, zeigte doch das Blutbild fast 3 Wochen nach erfolgter Splenektomie noch die gleichen Verhältnisse, einen Hämoglobingehalt von nur 60% und damit vollkommen in Übereinstimmung eine Erythrocytenzahl von 3 200 000.

Interessante Verhältnisse finden wir auch beim Normaltier, dessen Reaktion auf eisenarme Nahrung während dieser Zeit langsam abnimmt und zur Norm zurückkehrt, indem wohl das in der Leber und anderen Organen verfügbare Eisen zur Hämoglobinbildung verwendet wird, so zeigten vom 8. VI. bis

Tabelle IIIb.
Normaltier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Erythrocyten	Leukocyten
1. VI.	6300	78	6 400 000	1900
2.	—	—	—	—
3.	—	—	—	—
4.	—	—	—	—
5.	—	—	—	—
6.	—	74	5 800 000	1900
7.	—	—	—	—
8.	—	70	5 200 000	1700
9.	—	—	—	—
10.	6300	70	5 400 000	1800
11.	—	—	—	—
12.	—	70	5 800 000	2200
13.	—	—	—	—
14.	—	70	6 000 000	1900
15.	—	—	—	—
16.	—	—	—	—
17.	—	—	—	—
18.	—	70	6 000 000	2000
19.	—	—	—	—

zum 19. VI. sich stets gleich bleibende Befunde, ein Beweis, daß der durch das verabreichte Futter ausgelöste Reiz zu wirken aufgehört hatte. Andererseits sehen wir, daß eine während mehreren Wochen durchgeführte eisenarme Ernährung auf die Blutkörperchenmenge und den Hämoglobingehalt bei einem normalen Tier von keinem Einfluß ist. Hiermit soll nicht behauptet werden, daß dies auf die Dauer so bleiben würde, im Gegenteil, es läßt sich mit Sicherheit sagen, daß es nicht der Fall sein würde, denn die nachfolgende Versuchsreihe zeigt, daß auch für das Normaltier die eisenarme Nahrung nicht gleichgültig war. Für meine Versuchsreihe wesentlich ist nur, daß innerhalb der Versuchsdauer das Fehlen von Eisen beim normalen Tier für das Blut nichts ausmacht.

Wirkung eisenreicher Nahrung auf den splenektomierten und den normalen Hund.

So sicher in meinen Versuchen der Unterschied zwischen dem normalen und dem milzlosen Tier zutage trat, ließ sich trotzdem gegen das Resultat der Einwand erheben, daß es ein zufälliges sei oder, falls man dies als unwahrscheinlich nicht annehmen wollte, jedenfalls nicht notwendigerweise auf dem

Mangel von Eisen in der Nahrung beruhe. Um diesen Einwand zu beseitigen, war es nötig, die eisenarme Kost aufzugeben und eine eisenreiche den Hunden zu bieten. War die Eisenarmut der Nahrung an dem Mangel im Blute des milzlosen Hundes schuld, so mußte der Wechsel in der Ernährung die Ungleichheit der beiden Hunde aufheben. Der milzlose Hund mußte auf normale Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge kommen, während beim Normaltier, das ja keine Abweichung darbot, keine Abweichung zu erwarten stand. Aus diesem Grunde wurden vom 19. V. 1911 an beide Hunde mit einer möglichst eisenreichen Kost gefüttert, nämlich mit Fleisch und dem sehr eisenreichen Hundekuchen. Trotzdem die Hunde auch bei der eisenarmen Nahrung vollkommen gesättigt wurden, stürzten sie sich mit einer wahren Wut auf die ihnen nicht mehr gewohnte Kost und verschlangen sehr große Mengen, was sich sofort in einer stark aufsteigenden Gewichtskurve bemerkbar machte.

Zur Erklärung dieser starken Gewichtszunahme beider Tiere wird man in erster Linie daran denken, daß Fleisch ihnen eine zusagendere und bekömmlichere Nahrung war. Es muß aber auch daran gedacht werden, ob nicht der Mangel an Eisen, ehe er sich in den Verhältnissen des Blutes bemerklich macht, die Zellen derart beeinflußt, daß die Wachstumsenergie vermindert wird. Eisen hat im Organismus, da es außer im Hämoglobin noch in den Zellkernen vorkommt, noch andere Funktionen. Es ist naheliegend, an seine Befähigung als Katalysator zu denken. Übrigens geht aus dem Verlaufe der Gewichtskurve hervor, daß, wie schon Grossenbacher fand, das Wachstum junger Hunde durch das Fehlen der Milz nicht gestört wird, vorausgesetzt, daß eine richtige Ernährung stattfindet.

Die erwarteten Verhältnisse in bezug auf Hämoglobin und Erythrocytenzahl traten sowohl beim Versuchstier als auch beim Normaltier ungewöhnlich rasch ein. Der splenektomierte Hund zeigte nach Verlauf zweier Wochen vollkommen normale Befunde, gleich wie vor der Milzexstirpation; das Kontrolltier förderte trotz seiner starken Gewichtszunahme keine Änderung zutage, was wohl als ein schlagender Beweis für die Richtigkeit der aufgestellten Hypothese gelten kann, indem beide

Voraussetzungen mit fast möchte ich sagen mathematischer **Genauigkeit eintraten und so die festgestellte** Tatsache von **neuem** erhärteten.

Folgende Tabellen **IVa und IVb zeigen** des genaueren die **vom 19. VI. bis zum 11. VII. verfolgten** Resultate:

Tabelle IVa.
Splenektomiertes Tier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythro-cyten	Leuko-cyten
20. VI.	7000	62	3 600 000	2600
21.	—	—	—	—
22.	—	—	—	—
23.	—	65	4 400 000	2600
24.	—	—	—	—
25.	7450	66	4 800 000	2500
26.	—	—	—	—
27.	—	68	5 600 000	2100
28.	—	—	—	—
29.	7900	69	6 600 000	2000
30.	—	—	—	—
31.	—	—	—	—
1. VII.	—	70	7 000 000	1800
2.	—	—	—	—
3.	—	—	—	—
4.	—	70	7 400 000	1900
5.	—	—	—	—
6.	—	—	—	—
7.	—	—	—	—
8.	—	70	7 400 000	1900
9.	—	—	—	—
10.	—	—	—	—
11.	11 300	70	7 200 000	1800

Einfluß eines kleinen Blutentzuges auf das milzlose und das normale Tier.

Interessant war nun, nachdem beide Tiere ihren normalen Blutgehalt wiedergewonnen hatten, zu sehen, wie dieselben auf einen kleinen Blutentzug reagieren würden, indem bei dem einen ja die Milz, deren Zusammenhang mit den Zuständen des Blutes gezeigt wurde, fehlte; ob sich in dieser Beziehung irgendein Unterschied zwischen beiden zeigen würde, oder ob infolge stärkerer Ausbildung des Knochenmarks dieser Mangel sich ausschalten würde. Ja es konnte möglich sein, daß das Knochenmark nicht nur wie bei vorhandener Milz funktionieren, sondern auch gerade wegen größerer Inanspruchnahme viel stärker re-

Tabelle IVb.
Kontrolltier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobin-gehalt	Erythro-cyten	Leuko-cyten
20. VI.	—	70	6 200 000	1900
21.	—	—	—	—
22.	—	—	—	—
23.	6700	70	6 000 000	2100
24.	—	—	—	—
25.	7050	74	6 200 000	1900
26.	—	—	—	—
27.	—	70	6 400 000	1800
28.	—	—	—	—
29.	7800	70	6 200 000	1800
30.	—	—	—	—
31.	—	—	—	—
1. VII.	—	70	6 200 000	1900
2.	—	—	—	—
3.	—	—	—	—
4.	8000	70	6 400 000	1800
5.	—	—	—	—
6.	—	—	—	—
7.	—	—	—	—
8.	—	70	6 200 000	1900
9.	—	—	—	—
10.	—	—	—	—
11.	9500	70	6 200 000	1900

agieren und so die Blutbildung schneller als beim normalen Hunde vor sich gehen würde. Dieser Gedankengang führte mich dazu, am 1. VII. an beiden Tieren einen kleinen Blutentzug vorzunehmen. Zu diesem Zwecke wurde nach üblicher antiseptischer Vorbereitung bei jedem der Hunde die Carotis externa ligiert und nach Einführung einer Kanüle bei dem Normaltier gemäß seinem Gewichte 80 ccm, beim Versuchstier 95 ccm Blut herausgelassen. Beide Wunden heilten in sehr kurzer Zeit per primam. Während nun das normale Tier seine Reaktion durch ein leichtes Sinken des Hämoglobingehalts kund tat, stieg dieser beim splenektomierten Tiere in ganz kurzer Zeit in die Höhe und die roten Blutkörperchen vermehrten sich stark. Es mußte also durch die bewirkte schwache Anämie ein direkter und starker Reiz auf das Knochenmark ausgeübt worden sein, auf den es prompt durch eine Überproduktion von Blutkörperchen seine Antwort gab. Das bestärkt mich in meiner Überzeugung, daß beim milzlosen Tiere das Knochenmark nicht nur vollständig die Funktion der Milz

übernimmt und voll und ganz ersetzt, sondern auch sich in einer Art Reizzustand befindet, wodurch es ihm möglich ist, bei Blutverlust schneller und in weit höherem Maße für denselben einen Ersatz zu leisten, als dies bei einem normalen Tiere der Fall ist. Aus diesem Schlusse läßt sich vielleicht auch die klinische Tatsache erklären, daß die Rekonvaleszenz splenektomierter Patienten von sehr kurzer Dauer ist und ihr Hämoglobingehalt und ihr Blutbild sehr bald die physiologischen Verhältnisse erreicht. Doch muß auch an den Wegfall der hämolytischen Funktion der Milz gedacht werden. Dieser Gegenstand erfordert weitere Versuche, die im hiesigen Laboratorium im Gange sind.

Folgende Versuchsreihen demonstrieren die Wirkung des Blutentzuges bei dem milzlosen und dem milzhaltigen Hund.

Tabelle Va.

Versuchstier (splenektomiert).

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Erythrocyten	Leukocyten
11. VII.	11300	70	7200000	1800
12.	—	—	—	—
13.	—	—	—	—
14.	—	—	—	—
15.	—	75	7800000	2400
16.	—	—	—	—
17.	14000	72	7400000	2000
18.	—	—	—	—
19.	—	71	7200000	1800

Tabelle Vb.

Kontrolltier.

Datum	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Erythrocyten	Leukocyten
11. VII.	9500	70	6200000	1900
12.	—	—	—	—
13.	—	—	—	—
14.	—	—	—	—
15.	—	68	6200000	2100
16.	—	—	—	—
17.	—	70	6000000	2000
18.	—	—	—	—
19.	—	70	6200000	1900

Einen anschaulichen Gesamtüberblick über meine Ergebnisse geben die angehängte Tabelle und die Kurven des Hämoglobins und der Blutkörperchen. Sie lehren vor allem, daß bei eisenarmer Ernährung ein milzloses Tier gegenüber einem normalen im Nachteile ist, weil mit der Milz ein Organ fehlt, welches dem Organismus Eisen erhält. Kompensiert man dieses Fehlen durch eine eisenreiche Nahrung, so fällt, vorausgesetzt, daß der Organismus sonst normal ist, der Unterschied gegenüber dem milzhaltigen Tiere fort, es ist dann bei normalem und milzlosem Hunde die Blutkörperchenzahl und die Hämoglobinmenge normal. Es ist noch zu betonen, daß zunächst meine Ergebnisse nur für den Hund Geltung haben.

Resultate.

Vorliegende Versuche veranlassen mich, folgende Schlüsse und Folgerungen aufzustellen, die in Kürze gefaßt lauten:

1. Werden junge Hunde einige Wochen lang mit praktisch eisenfreier Nahrung gefüttert, so steigt im Anfange die Blutkörperchenzahl und der Hämoglobingehalt an, um dann wieder zur Norm zurückzukehren.

2. Entfernung der Milz ruft bei einem eisenarm ernährten Hunde eine starke Verminderung von Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge hervor. Diese Verminderung wurde wochenlang beobachtet. Ein Kontrolltier unter sonst gleichen Bedingungen zeigte nichts Abnormes.

3. Blutkörperchenzahl und Hämoglobinmenge kehren zur Norm zurück, sowie Fleisch, eine eisenreiche Nahrung, gegeben wird.

4. Die beiden vorstehenden Tatsachen sind geeignet, den Widerspruch aufzuklären, der darin besteht, daß die einen Autoren einen großen Einfluß des Fehlens der Milz auf das Blutbild konstatierten, die andern gar keinen. Es kann das jeweilige Resultat nur von dem Unterschied in der Ernährung herrühren. Die Lehre von Asher, daß die Milz ein Organ des Eisenstoffwechsels sei, erhält durch meine Versuche eine neue Stütze.

5. Ein kleiner Blutentzug bewirkt bei einem splenektomierten Tiere eine kurz andauernde Steigerung von Hämoglobin und Erythrocyten, bei einem normalen Tiere erfolgt eine leichte Abnahme beider Komponenten.

Kontrolltier, Alter bei Beginn der Arbeit 9 Wochen

Untersuchungstage	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Bemerkungen
1. V.	5020	59	6 000 000		
2.		59	5 800 000		
4.		63	5 200 000		
6.		68	5 200 000		
8.		68	5 600 000		
10.		68	5 200 000		
12.		69	5 400 000		12. Beginn mit d.
15.	6900	70	5 200 000	1600	Fe-armen Nah-
17.		70	5 400 000	1900	rung, bestehend
20.		70	5 600 000	1800	aus Zucker,
22.	6500	72	5 600 000	1900	Stärke, Schmalz
27.		75	5 800 000	1900	
29.	6250	78	6 200 000	1900	
30.		79	6 600 000	2100	
6. VI.		74	5 800 000	1900	
8.		70	5 200 000	1700	
10.	6300	70	5 400 000	1800	
12.		70	5 800 000	2200	
14.		70	6 000 000	1900	
16.	6350	70	6 200 000	2100	
18.		70	6 000 000	2000	19. VI. Beginn d.
20.		70	6 200 000	1900	Fleischnahrung
23.	6700	70	6 000 000	2100	
25.	7050	70	6 200 000	1900	
27.		70	6 400 000	1800	
29.	7800	70	6 200 000	1800	
1. VII.		70	6 200 000	1900	
4.	8000	70	6 400 000	1800	
6.		70	6 400 000	1800	
8.		70	6 200 000	1900	
11.	9500				Entziehung von
15.		68	6 200 000	2100	80 ccm Blut
17.	11200	70	6 000 000	2000	Beginn mit Fe-
19.		70	6 200 000	1900	armer Nahrung

Versuchstier, Alter 9 Wochen

Untersuchungstage	Gewicht g	Hämoglobingehalt	Rote Blutkörperchen	Weiße Blutkörperchen	Bemerkungen
1. V.	5700	60	7 600 000		
2.		60	7 400 000		
4.		64	8 800 000		
6.		65	6 800 000		
8.		68	7 000 000		
10.		68	7 200 000		
12.		68	7 000 000		12. Beginn mit Fe-
15.	7200	70	7 400 000	2000	armer Nahrung
17.		70	7 200 000	1900	
20.		70	7 000 000	2000	
22.	7250	73	7 600 000	2200	
27.		73	7 600 000	2200	
29.		75	7 800 000	2400	
30.	7260	78	7 800 000	2400	
7. VI.		55 56 56	3 200 000	3100	1. VI. Milzexstir-
8.		58	3 200 000	2800	pation, Gewicht
10.	6850	60	3 400 000	2900	25 g
12.		60	3 600 000	2800	7. VI. Nähte ent-
14.		60	3 400 000	2700	fernt
16.		60	3 400 000	2500	
18.		60	3 200 000	2500	19. VI. Beginn mit
20.	7000	62	3 600 000	2600	Fe-reicher Nah-
23.		65	4 400 000	2600	rung: Hunde-
25.	7450	66	4 800 000	2500	kuchen, Fleisch
27.		68	5 600 000	2100	
29.	7900	69	6 600 000	2000	
1. VII.		70	7 000 000	1800	
4.		70	7 400 000	1900	
6.		70	7 400 000	1900	
8.		70	7 200 000	1800	
11.	11300				Entziehung von
15.		75	7 800 000	2400	95 ccm Blut
17.	14000	72	7 400 000	2000	17. Beginn mit Fe-
19.		71	7 200 000	1800	armer Nahrung

6. Für die Tatsache, daß die Entfernung der Milz auf das Wachstum und die Entwicklung keinen Einfluß ausübt, bringen die vorliegenden Versuche einen abermaligen Beweis.

Literatur.

L. Asher, Centralbl. f. Physiol. 22, Heft 12. — Derselbe und H. Grossenbacher, diese Zeitchr. 17, 78.—Derselbe und R. Zimmermann, diese Zeitschr. 17, 297. — R. Bayer, Mitteilungen aus dem Grenzgeb. d. Medizin u. Chirirurgie 21, 338; 22, 111 und 532. — J. Seemann, Ergebn. d. Physiol., 1. Abt. 1904. — Hoiz in Bruns' Beiträgen zur klin. Chir. 50, 1906. — Regling und Klunker, Deutsche Militärärztliche Zeitschr. 1911, Heft 13. — A. Pugliese, Centralbl. f. Physiol. 25, Nr. 22, S. 72, 1911 (hierin die einschlägigen Arbeiten Puglieses und seiner Mitarbeiter zitiert).

Gewichtstabelle.

Gewicht in Gramm.

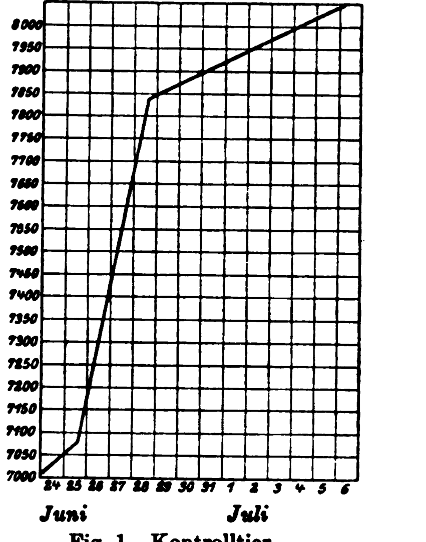


Fig. 1. Kontrolltier.

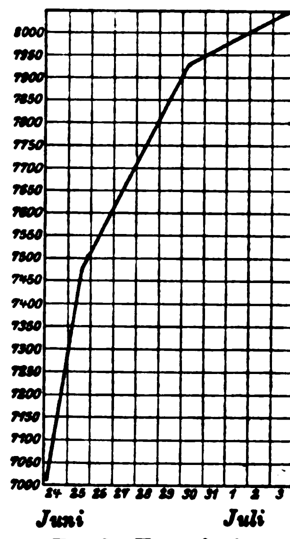


Fig. 2. Versuchstier.

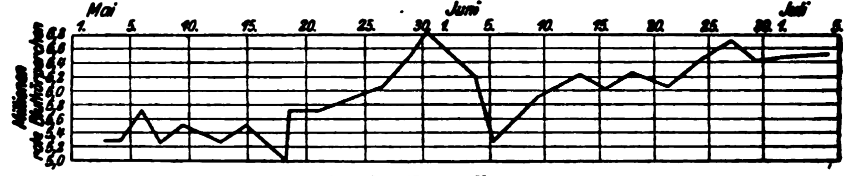


Fig. 3. Kontrolltier.

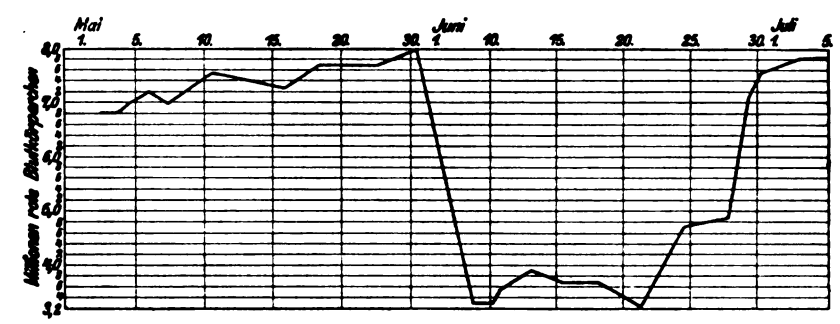


Fig. 4. Versuchstier.

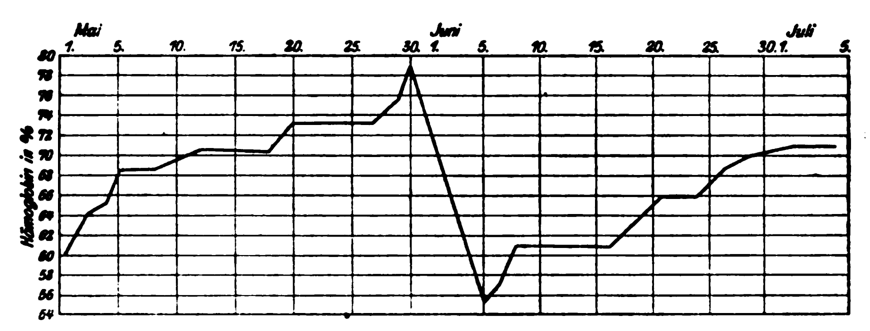


Fig. 5. Versuchstier.

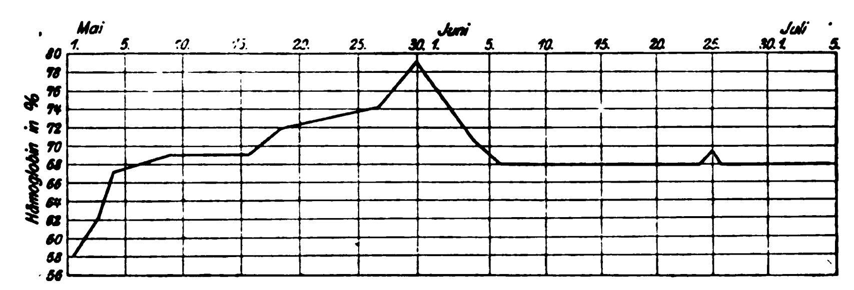


Fig. 6. Kontrolltier.

Gasvolumetrische Bestimmung der Äther- und Chloroformdämpfe in athmosphärischer Luft.

Von

M. Kochmann und W. Strecker.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 2. Juli 1912.)

Mit 1 Figur im Text.

Manche Fragestellungen in dem Problem der Inhalationsnarkose harren vielleicht deshalb noch ihrer Beantwortung, weil es immer noch an hinreichend zuverlässig arbeitenden Apparaten gebricht, die Dämpfe des Narkoticums in der Luft zu dosieren, und dann an einer Methode, den Gehalt der Luft an Narkoticum in einfacher, dabei genauer und auch klinisch brauchbarer Weise zu analysieren. Versuche, die Inhalationsanästhetica Äther und Chloroform nach der Verdampfung in einem Äther-, bzw. Chloroformluftgemisch quantitativ zu bestimmen, sind allerdings von sicherem Erfolg begleitet gewesen. Am einfachsten gestaltete sich die quantitative Bestimmung des Chloroforms, die fast ausnahmslos auf der Zerlegung des Chloroforms durch alkoholische Kalilauge und der Titration der gebildeten Chloride mit Silbernitratlösung beruht. Die vollkommenste Form hat diese Methode wohl in der Ausgestaltung erfahren, die ihr Nicloux[1]) gegeben hat. Auch wir haben uns durch mehrfache Versuche von ihrer Zuverlässigkeit überzeugt und können damit nur die Angaben Madelungs[2]) bestätigen.

---

[1]) M. Nicloux, Soc. d. Biol. **142**, 163, 1906.

[2]) W. Madelung, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **62**, 414, 1910.

Diesem Autor können wir aber auch in seinem Urteil über die Methode Nicloux'[1]), den Äthergehalt in einem Ätherluftgemisch zu analysieren, beistimmen. Wir sind nämlich ebensowenig wie Madelung zu einigermaßen befriedigenden Ergebnissen gekommen, gleichgültig ob wir genau den Anweisungen Nicloux' folgten oder Modifikationen anbrachten. Wir wollen an dieser Stelle hervorheben, daß es uns nicht gelang, durch mit schwefelsäurehaltigem Wasser beschickte Waschflaschen, welche Form sie auch haben mögen, den Ätherdampf der Luft quantitativ abzufangen. Wegen der Unzulänglichkeit der Nicloux schen Methode bestimmte Madelung den Äther durch die Elementaranalyse, indem die durch die Verbrennung sich bildende Kohlensäure bestimmt und daraus der Äther berechnet wurde. Dieses Verfahren gab dem Autor gute Resultate.

Zweifellos haften sowohl der Ätherbestimmung, wie der Chloroformbestimmung trotz der einwandfreien Ergebnisse gewisse Übelstände an. Die Methoden sind nicht einfach genug, erfordern eine ziemlich komplizierte Apparatur und infolgedessen ein Laboratorium. Außerdem dauert jede Analyse im ganzen doch wohl mindestens 2 Stunden, wenn nicht länger.

Die Methode, die wir im folgenden beschreiben, will diese eben genannten Übelstände vermeiden, da sie ohne größere Apparatur auch außerhalb eines eingerichteten Laboratoriums in ungefähr einer Viertelstunde auszuführen ist und für die meisten Zwecke hinreichende Genauigkeit erzielt.

Sie beruht auf dem Prinzip der volumetrischen Gasanalyse, wie sie besonders von Hempel ausgebildet wurde. Das Äther- bzw. Chloroformluft- (oder Sauerstoff)gemisch wird in eine 100 ccm fassende, graduierte Bürette gebracht, die an beiden Enden durch Glashähne verschließbar ist. Der Inhalt der Bürette wird nunmehr mit einer Flüssigkeit in Berührung gebracht, die Luft oder Sauerstoff nicht löst, dagegen Äther oder Chloroform quantitativ absorbiert. Aus der Volumenverminderung des Büretteninhalts nach Wiederherstellung des Atmosphärendrucks ist die Menge des absorbierten Narkoticums abzulesen.

Zunächst versuchten wir durch Paraffinum liquidum und Olivenöl den Äther- und Chloroformdampf zu absorbieren.

[1]) M. Nicloux, Soc. d. Biol. 61, 577 u. 606, 1906.

Jedoch durch das Durchschütteln des Büretteninhalts mit den schwerflüssigen Paraffin- bzw. Ölmassen, das notwendig war, um eine gute Kontaktwirkung zu erhalten, wurde eine größere Anzahl Luftbläschen in den Flüssigkeiten eingeschlossen, rein mechanisch wie wir glauben, so daß, wenn auch nur reine Luft mit 100 ccm Paraffin oder Öl geschüttelt waren, Verluste von 3 bis 5 % vorhanden waren. Da zur Analyse nur 10 ccm Absorptionsmittel gebraucht wurden, so mußte eine Korrektur von 0,3 bis 0,5 % angebracht werden. Die so erhaltenen Resultate waren alsdann nicht schlecht, wie die Tabelle ergibt.

Prozentgehalt des Luftgemisches an Äther	Absorptionswert
11,4	11,5
10,4	10,5
14,4	13,9
13,1	13,0
13,2	13,3

Jedoch befriedigten diese Versuche nicht, weil gewöhnlich zu hohe Werte gefunden wurden und auch die Korrekturen uns zu willkürlich schienen, da die vom Paraffin oder Öl mitgerissenen und eingeschlossenen Luftmengen von der Intensität des Schüttelns abhängig sind. Auch andere Fehlerquellen konnten noch vorhanden sein, die wir aber nicht schildern wollen, da wir alsbald zu einer andern Methode übergingen.

Als Absorptionsflüssigkeit wählten wir nunmehr Alkohol von 96 %, der Chloroform und Äther leicht zu lösen vermag und auch von Nicloux schon zum Abfangen der Chloroformdämpfe benutzt worden war. Die nach der Absorption der Äther- bzw. Chloroformdämpfe in der Bürette vorhandenen Alkoholdämpfe wurden durch destilliertes Wasser quantitativ entfernt. Nach mehrfachen Versuchen mit der Hempelschen und dann mit der Frankschen Bürette entschlossen wir uns zur Anwendung des Lungeschen Nitrometers[1]), erhielten aber die besten Ergebnisse mit Hilfe der Buntebürette. Zum besseren Verständnis unserer Methode sei eine Abbildung (Fig. 1) der Buntebürette zugefügt.

Bei geöffneten Hähnen wird die Bürette aus einem Gasometer, der ein Äther- bzw. Chloroformluftgemisch von bestimmtem Gehalt einschließt, mehrere Minuten durchströmt, dann werden die Hähne geschlossen und

[1]) Vgl. H. Franzen, Gasanalytische Übungen. Leipzig 1907.

die Bürette wird in ein Stativ befestigt. Das unter dem Hahn *b* befindliche nahezu capillare Glasrohr wird mit Quecksilber gefüllt und durch einen dickwandigen Gummischlauch mit einem Quecksilberbehälter in Verbindung gebracht. Durch Heben dieses Behälters strömt das in ihm vorhandene Quecksilber durch den nunmehr geöffneten Hahn in die Bürette, die, wie die Abbildung zeigt, mehr als 100 ccm faßt. Das Quecksilber wird über den Nullpunkt gehoben. Jetzt wird der Hahn *b* wieder geschlossen, das Quecksilbergefäß gesenkt und durch vorsichtiges Öffnen des Hahnes *b* der Quecksilberspiegel in der Bürette genau auf den Nullpunkt eingestellt. Durch einmalige Umdrehung des doppelt durchbohrten Hahnes *a* wird der Überdruck, der in der Bürette vorhanden ist, durch das Rohr *c* entleert. Die Bürette enthält nunmehr genau 100 ccm des zu analysierenden Gasgemisches.

Fig. 1.

Gewöhnlich füllten wir allerdings die Bürette aus dem gläsernen Gasometer, in dem wir die Luftnarkoticummischung[1]) herstellten, auf andere Weise, um unnötige Verschwendung der Gemische zu vermeiden. Durch Heben des Quecksilbergefäßes wurde bei geöffneten Hähnen *a* und *b* die ganze Bürette einschließlich des Rohres *c* mit Quecksilber gefüllt, die Hähne geschlossen, *c* mit dem Gasometer verbunden, aus dem durch Quecksilber das Luftgemisch verdrängt werden konnte. Der Quecksilberbehälter wurde nunmehr gesenkt, der Hahn *a* so gestellt, daß die Bürette mit dem Gasometer kommunizierte. Wurde jetzt auch *b* geöffnet, so füllte sich die Bürette mit dem Narkoticumluftgemisch, und zwar wurden mehr als 100 ccm eingefüllt. Die genaue Abmessung von 100 ccm geschah ebenso wie im ersten Falle.

Die Narkoticumluftgemische wurden in der Weise hergestellt, daß eine Capillare etwa zur Hälfte mit dem Narkoticum gefüllt und dann schnell zugeschmolzen wurde. Die Wägung vor und nach der Füllung ergab die Menge des Narkoticums, das in den Gasometer, dessen Inhalt genau bekannt war, gebracht wurde.

Bei geschlossenen Hähnen wurde nunmehr die Capillare durch heftiges Schütteln zerschlagen, so daß der Inhalt herausfloß und leicht verdampfte.

In das Gefäß *f* der Buntebürette wurde nunmehr Alkohol eingefüllt, durch Senken des Quecksilbergefäßes bei geöffnetem Hahn *b* der Quecksilberspiegel in der Bürette stark gesenkt. Dadurch entsteht ein luftverdünnter Raum, in den durch den Hahn *a* der Alkohol hindurchschießt. Es ist selbstverständlich, daß keine Luft in die Bürette einströmen darf. Durch weiteres Senken des Quecksilbergefäßes wird der Rest des in der Bürette befindlichen Quecksilbers aus ihr entfernt, und das unter *b* gelegene Rohr wird mit einem mittels der Wasserstrahlpumpe ausgepumpten Saugflasche *s* verbunden. Jetzt läßt man noch etwas

---

[1]) Narkoticummischung ist der Kürze halber für Äther- bzw. Chloroformluftgemisch gesagt.

Alkohol aus *f* nachfließen und schüttelt den in der Bürette befindlichen Alkohol mehrmals mit dem Luftnarkoticumgemisch durch, indem die Bürette mehrmals gekippt und wieder aufgerichtet wird. Der mit dem gelösten und absorbierten Narkoticum beladene Alkohol wird durch Absaugen wieder entfernt und durch frischen ersetzt. Nach zweimaliger Erneuerung und Entfernung des Alkohols läßt man aus dem Gefäß *f* Wasser nachströmen, um die Alkoholdämpfe zu entfernen. Nach zwei- bis dreimaliger Erneuerung des Wassers sind die Alkoholdämpfe absorbiert. Die Bürette wird jetzt durch das unter Hahn *b* gelegene Rohr mittels eines Gummischlauches mit einem Niveaurohr verbunden, das mit Wasser gefüllt ist. Bei geöffnetem Hahn *b* wird der Wasserspiegel in der Buntebürette und der des Niveaurohrs in gleiche Höhe eingestellt und nach 10 bis 15 Minuten der Stand des Wasserspiegels in der Bürette abgelesen. Da das Gas über Quecksilber aufgefangen, über Wasser aber der Verlust abgelesen wird, so ist jetzt die in der Bürette vorhandene Luft mit Wasserdampf gesättigt, während die Luft vorher nur den relativen gerade herrschenden Feuchtigkeitsgehalt aufwies. Um die Menge des aus dieser Differenz herrührenden Wasserdampfes ist der Stand des Wasserspiegels in der Bürette zu niedrig und muß als Korrektur in Ansatz gebracht werden.

Die ganze Prozedur dauert bei einiger, sehr bald zu erlangender Übung einschließlich der Füllung der Bürette etwa 20 Minuten, die Analyse selbst etwa 10 Minuten, so daß unter Umständen eine große Anzahl von Bestimmungen hintereinander ausgeführt werden können. Im folgenden eine Anzahl von Beleganalysen, die auch die vorkommenden Berechnungen demonstrieren.

Versuch.

Temp. 17°, 755 mm Hg Luftdruck, 81% relative Luftfeuchtigkeit.

Gasometerinhalt 626 ccm, in der Capillare abgewogene Äthermenge 0,0860 g = 25,79 ccm Gas bei 0° und 760 mm Hg (Normalverhältnisse, N.-V.) = 27,54 ccm Gas bei den gegebenen Verhältnissen (G. V.). Menge des Gemisches 626 + 27,54 ccm = 653,54 oder 4,2% Ätherdampf[1]).

---

[1]) Berechnung des Gasvolumens aus dem Gewicht bzw. dem Volumen der zu verdampfenden Flüssigkeit:

1000 ccm Wasserstoffgas wiegen bei 0° und 760 mm Hg Druck 0,09005 g.

Da die spezifischen Gewichte verschiedener Gase sich wie ihre Molekulargewichte verhalten, so ergibt sich die Gleichung:

$$a : 0{,}09005 = m : 2\,,$$

wobei a 1000 ccm eines anderen Gases, m sein Molekulargewicht und 2 das Molekulargewicht des Wasserstoffs ist.

Mithin: 1000 ccm des Gases wiegen $\dfrac{0{,}09005 \cdot m}{2}$ g

oder: 1 g des Gases $= \dfrac{2 \cdot 1000}{0{,}09005 \cdot m}$ ccm.

Analyse der in der Buntebürette befindlichen 100 ccm;

Abgelesen 3,8 ccm Verlust, Wasserdampfmenge 0,4 ccm, also wirklicher Verlust der Äthermenge = 4,2%.

Da 1 g des Gases identisch ist mit 1 g Flüssigkeit, so ergibt sich:

1 g der zu verdampfenden Flüssigkeit bildet $\frac{2 \cdot 1000}{0,09005 \cdot m}$ ccm Gas.

Da $G = V \cdot s$ ist (wobei G das Gewicht einer Flüssigkeit, V ihr Volumen und s ihr spezifisches Gewicht bedeutet), so bildet

1 ccm einer Flüssigkeit $\frac{2 \cdot 1000 \cdot s}{0,09005 \cdot m}$ ccm Gas $= \frac{22209,89 \cdot s}{m}$.

Die Umrechnung des Gasvolumens bei 0° auf das bei einer anderen Temperatur erfolgt nach der Formel $V_x = V\left(1 + \frac{1}{273} t\right)$, wobei V_x das unbekannte Volumen, V das bei 0°, t die Temperatur ist, für die V_x berechnet werden soll.

Die Umrechnung der Gasvolumina bei verschiedenem Druck geschieht nach der Formel $V_x = \frac{V \cdot 760}{D}$, wobei D der Druck ist, zu dem V_x gefunden werden soll.

Die Berechnung der Wasserdampfmenge bei der Ablesung vollzieht sich folgendermaßen: Angenommen, die relative Luftfeuchtigkeit beträgt beim Einfüllen des Gases in die Buntebürette 75%, so fehlen 25% zur vollkommenen Sättigung. Bei Sättigung von 1 cbm Luft mit Wasserdampf beträgt die Menge des Wasserdampfes z. B. bei 18° 15,2 g, Verhältnisse, die beim Ablesen über Wasser nach Absorption des Narkoticumdampfes eintreten. Mithin würden bei relativer Luftfeuchtigkeit von 75% $\frac{15,2 \cdot 25}{100}$ g pro Kubikmeter Luft dazukommen. 1 ccm enthielte den $^1/_{1000000}$ Teil. Die Umrechnung in Gasvolumina erfolgt nach der umseitig entwickelten Formel. Die für diese Berechnung in Betracht kommenden Zahlen seien hier nach F. Kohlrauschs Leitfaden zitiert:

Gehalt an Wasserdampf von 1 cbm Luft bei Temperatur t bei vollkommener Sättigung.

t	g
16°	13,5
17°	14,4
18°	15,2
19°	16,2
20°	17,2
21°	18,2
22°	19,2
23°	20,4
24°	21,6
25°	22,8

Zur Bequemlichkeit seien noch folgende Daten, die die Rechnung erleichtern, vollständig ausgerechnet angegeben:

Das Gasvolumen V_x des Chloroforms = V_{fl} (Flüssigkeitsvolumen) · 277,

das des Äthers = V_{fl} · 216,

das des Wassers = V_{fl} · 1234.

In absoluten Gewichtszahlen ausgedrückt: Vorhanden waren 18,1 mg Äther, gefunden wurden 18,1 mg Äther, also die gleiche Menge.

Die übrigen Versuche seien zunächst tabellarisch zusammengestellt:

	Tatsächlicher Gehalt an Narkoticum		Gefunden		Temperatur	Druck
	Vol.-%	mg	Vol.-%	mg	°C	mm Hg
Äther	4,2	18,1	4,2	18,1	17	755
	4,2	18,1	4,2	18,1	19	755
	4,2	18,1	4,2	18,1	19	755
	4,4	19,0	4,1	17,7	16	751
	4,4	19,0	4,4	19,0	16	751
	8,6	37,5	8,45	36,9	15	755
	9,97	43,75	9,43	41,4	15	760
	10,6	46,5	10,4	45,6	15	760
Chloroform	2,1	7,1	2,1	7,1	18,5	760
	2,1	7,1	1,9	6,4	18,5	760
	2,1	7,1	2,0	6,75	18,5	760
	3,7	12,3	3,4	11,3	20	760
	3,7	12,3	3,5	11,6	20	760
	1,22	4,2	1,2	4,1	15	760
	1,22	4,2	1,25	4,3	15	760
	1,22	4,2	1,17	4,0	16,5	760

Es ergibt sich aus den Belegen, daß die Methode sehr brauchbare Ergebnisse aufweist und ihre Genauigkeit für die meisten Zwecke hinreichend ist. Mengen unter 0,4% lassen sich allerdings schwer bestimmen, nach oben aber darf die Menge in weiten Grenzen schwanken. Im Verein mit der Genauigkeit ist die kurze Dauer der Analyse und die geringe Apparatur wohl sicher ein großer Vorteil. Über die Zwecke, denen die Methode dienen kann, sollen spätere Versuche Aufschluß geben.

Es ist selbstverständlich, daß auf die angegebene Art und Weise auch andere Gase, z. B. Chloräthyl, in einem Luftgemisch oder Alkoholdämpfe bestimmt werden können.

Analytische Belege.

I. Temperatur 17°. Druck 755 mm Hg. Relative Luftfeuchtigkeit 81%.

Gewogene Äthermenge 0,0860 g = 27,54 ccm Gas. Luft-Äthergemisch 653,54 ccm mit 4,2% Ätherdampf.

Abgelesen nach der Absorption: 3,9 ccm + 0,3 ccm Wasserdampf = 4,2%.

Weitere Bestimmungen desselben Äther-Luftgemisches ergeben gleiche Resultate.

II. Abgewogene Äthermenge 0,0820 g = 26,04 ccm Gas bei 16° und 751 mm Hg Druck. Im Gemisch von 652,35 ccm 4,4% Äther.

Absorbiert: 3,8 ccm.

Hinzugekommen 0,33 ccm Wasserdampf (relative Luftfeuchtigkeit 81 %). Also gefunden 4,13 % Äther.

Zweite Bestimmung aus demselben Gemisch ergibt 4,1 ccm Absorption + 0,3 ccm Wasserdampf, also 4,4 % Äther.

III. Gemessene Äthermenge 1,4371 ccm Äther = 329,58 ccm Gas, Gemisch 3824,73 ccm, Äthergehalt 8,6 %. Temp. 15°, Druck 755.

Absorbiert 8,1 ccm, Wasserdampf 0,35 ccm, die zur Sättigung fehlen (relative Luftfeuchtigkeit 77 %). Also Äther 8,45 % gefunden.

IV. Äthermenge 1,7143 ccm flüssig = 391,15 ccm Gas bei 15° und 760 mm Hg. Gemisch 3920,56 ccm = 9,97 ccm Äther.

Absorbiert 9,0 ccm + 0,43 ccm Wasserdampf, die zur Sättigung fehlen (relative Luftfeuchtigkeit 72 %). Also Äthermenge 9,43 % Äther gefunden.

V. Äthermenge in flüssigem Zustande 1,8393 ccm = 424,21 ccm bei 18,5° und 760 mm Hg. Gemisch 3988,57 ccm = 10,6 % Äther.

Absorbiert 10,0 ccm, Wasserdampf 0,4 ccm (bei relativer Luftfeuchtigkeit von 67 %). Also 10,4 % Äther gefunden.

Chloroformbestimmungen.

I. Gewogene Chloroformmenge 0,0658 g = 18,10 ccm Gas bei 18,5° und 760 mm Hg. Dies 626 ccm Luft zugemischt ist 2,1 % Chloroformdampf.

Gefunden: Absorption 1,6 ccm + 0,5 ccm Wasserdampfdifferenz (bei 75 % relativer Luftfeuchtigkeit = 2,1 % Chloroformdampf.

II. Von demselben Chloroform-Luftgemisch ergibt eine zweite Analyse: Absorbiert werden 1,4 ccm + 0,5 ccm Wasserdampf = 1,9 ccm oder 1,9 % Chloroformdampf.

III. Eine dritte Bestimmung zeigt eine Absorption von 1,5 ccm + 0,5 ccm Wasserdampf = 2,0 ccm oder 2,0 % Chloroformdampf.

IV. Zu 626 ccm Luft werden 0,1208 g Chloroform = 24,17 ccm Chloroformdampf bei 20° und 760 mm Hg = 3,7 % zugesetzt.

Gefunden: Absorption 2,9 ccm + 0,5 ccm Wasserdampf (bei 81 % relativer Luftfeuchtigkeit) = 3,4 % Chloroformdampf.

V. Eine zweite Bestimmung ergibt 3,0 ccm Absorption + 0,5 ccm Wasserdampf bei 81 % relativer Luftfeuchtigkeit = 3,5 % Chloroformdampf.

VI. Zu 626 ccm Luft werden 0,0391 g Chloroform = 7,71 ccm Dampf bei 15° und 760 mm Hg zugesetzt. Das entspricht 1,22 % Chloroformdampf.

Gefunden: Absorption 0,8 ccm + 0,4 ccm Wasserdampf = 1,2 % Chloroformdampf.

VII. Von demselben Gemisch werden gefunden:

Absorption 0,5 ccm; da bei 16,5° abgelesen wird, bei 15° eingefüllt ist, so muß der Temperaturunterschied berücksichtigt werden; er macht 0,35 ccm aus, da das übriggebliebene Gas bei 15° um diesen Betrag geringeres Volumen hätte. Wasserdampf 0,4 ccm. Mithin Chloroformdämpfe 0,5 + 0,35 + 0,4 ccm = 1,25 %.

Von demselben Gemisch werden gefunden:

Absorption 0,8 ccm + Wasserdampf 0,4 ccm = 1,2 % Chloroformdämpfe.

Zur Kenntnis der Herabsetzung von Giftwirkungen durch Eiweiß.

Von

H. Boruttau.

(Aus der physiologisch-chemischen Abteilung des städtischen Krankenhauses im Friedrichshain zu Berlin.

(Eingegangen am 9. Juli 1912.)

Die Produkte der gegenseitigen Einwirkung von Eiweißkörpern und anorganischen Elementen und Verbindungen blieben in ihrem Wesen so lange unverständlich, als eine genauere Kenntnis des chemischen Aufbaues der Eiweißkörper selbst fehlte. Mit den neueren Arbeiten über diesen eröffnet sich die Aussicht auch auf das Verständnis der Produkte der Einwirkung von Mineralstoffen, die nicht mit tiefgehender Zersetzung des Eiweißmoleküls einhergeht. Bis jetzt besteht indessen in vielen Fällen nicht einmal Einigkeit darüber, wie weit chemische und wie weit rein physikalische Kräfte mitwirken. Für die Vertreter der Anschauung, daß die physikalische Chemie der Eiweißkörper als Kolloide sich prinzipiell von derjenigen der Krystalloide nicht unterscheidet und daß die Proteine als polymere Aminosäuren sich in bestimmter Weise elektrolytisch dissoziieren [1]), handelt es sich bei der Einwirkung von Halogenen, Schwermetallen usw. durchweg um chemische Verbindungen, die den Gesetzen der Ionenlehre folgen: dieser Anschauung steht diejenige gegenüber, die auf die Oberflächenvorgänge an den sehr großen Eiweißmolekülen

---

[1]) Siehe besonders die instruktive Darstellung von Brailsford Robertson, Physikalische Chemie der Eiweißkörper, S. 18 bis 27 der deutschen Ausgabe, Dresden, Steinkopff, 1912.

Hauptwert legt und elektrische Doppelschicht statt Ionennatur, Adsorptionsvorgänge statt chemischer Bindung annimmt.

Zu den Methoden der Untersuchung der in Rede stehenden Einwirkungen gehört auch die biologische, bei der es sich um Veränderung resp. sog. Maskierung physiologischer Wirkungen bei Gegenwart von Eiweißkörpern handelt. Die Verabreichung von Eiweiß als Gegenmittel bei Vergiftungen ist bekannt. „Verbindungen" von Eiweiß mit Arzneistoffen wie Jod, Brom, Eisen, Mangan werden in der Therapie vielfach benutzt. Handelt es sich um sehr wirksame Gifte, deren tödliche Dosis für höhere Tiere, Protozoen und Bakterien scharf bestimmbar ist, so kann deren Ermittelung für die Produkte der Einwirkung auf Eiweißkörper die Natur dieser Produkte aufklären helfen; es sei an die Versuche von La Franca[1]) erinnert, der die Herabsetzung der Giftigkeit von Schwermetallsalzlösungen für Bakterien der Zahl der durch Zusatz von Eiweiß gebundenen Schwermetallionen (deren Konzentration elektrometrisch bestimmt wurde) proportional fand.

Ein Produkt der Einwirkung von Arsentrichlorid auf Weizeneiweiß („Glidine") ist unter der Bezeichnung „Arsan" im Handel; nach Versuchen von W. Loeb[2]) zeigt dasselbe gegenüber entsprechenden Mengen arseniger Säure im Tierversuch herabgesetzte Giftigkeit, obwohl es schon beim Digerieren mit reinem Wasser seinen Arsengehalt leicht abgibt, — binnen 1 Stunde zu 50%, binnen 4 Tagen fast vollständig, — nach des Autors Angabe in Form von arseniger Säure. Auf der allmählichen Abspaltung dieser, wobei das Eiweiß die Rolle eines Verdünnungsmittels spiele, und der dadurch verringerten Resorptionsgeschwindigkeit soll die Herabsetzung der Giftigkeit beruhen.

Um zu untersuchen, wie weit hier chemische Bindung, wie weit rein mechanische „Verdünnung" resp. Einhüllung oder Adsorption im Spiele ist, habe ich eine Reihe von Parallelversuchen über Abgabe von Arsen an Wasser, verdünnte Salzsäure und verdünnte Natriumcarbonatlösung, Abspaltung von Arsen und Verdauung in vitro, endlich über Intensität der

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 481, 1906.

2) Med. Klin. 1909, Nr. 17.

Giftwirkung angestellt, und zwar 1. an dem von Loeb untersuchten Präparat, einem gelbbraunen Pulver von ziemlich konstant 4,3% Arsengehalt; 2. an einem Gemisch, welches ich aus dem arsenfreien Ausgangsmaterial „Dr. Klopfers Glidine" durch Verreiben mit soviel reiner arseniger Säure herstellte, daß es gleichfalls 4,3% Arsen enthielt.

1. Es wurde je 1 g mit 50 ccm destilliertem Wasser 2 Stunden lang digeriert. Nach Ablauf dieser Zeit enthielt vom „Arsan"

der Rückstand 19,5 mg Arsen,
die Digestionsflüssigkeit 23,1 mg „
Sa. 42,6 mg,

von der Arsenik-Glidine-Verreibung

der Rückstand 41,4 mg Arsen,
die Digestionsflüssigkeit 1,9 mg „
Sa. 43,3 mg.

Auch nach 24stündigem Digerieren waren aus der Verreibung nur 3 mg Arsen in die Digestionsflüssigkeit übergegangen. Außer der Schwerlöslichkeit der arsenigen Säure in Wasser an sich ist hieran offenbar eine mechanische Wirkung des gleichfalls unlöslichen feinverteilten Eiweißkörpers mitbeteiligt.

Nach Ablauf von 24 Stunden Digestion mit Wasser enthielt vom „Arsan"

der Rückstand noch 2 mg Arsen,
die Digestionsflüssigkeit 41 mg „
Sa. 43 mg.

Nach vorsichtigem Abdampfen und Trocknen über Schwefelsäure ergab das Gesamtfiltrat 163,2 mg Trockenrückstand; hiervon waren wie gesagt Arsen 41 mg gleich 25,12%, es wurden ferner gefunden Stickstoff 20,8 mg gleich 12,70% und nicht flüchtige Aschebestandteile 13,8 mg gleich 8,45%. Qualitativ wurde ferner Kohlenstoff und Schwefel in dem Trockenrückstande nachgewiesen.

2. Zu näherem Aufschluß über den Zustand des Arsens wurde je 1 g des „Arsan" und der Verreibung in je 50 ccm Flüssigkeit suspendiert in ein Dialysatorgefäß gebracht, dessen Boden aus dünnem Pergamentpapier bestand und gegen kräftig fließendes Wasser je 48 Stunden lang dialysiert.

Fall A. Die Suspensionsflüssigkeit war reines Wasser:
Vom „Arsan“ fanden sich im Rückstand 10,3 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 33,0 mg „
Sa. 43,3 mg.
Von der Arsenik-Glidine-Verreibung fanden sich
im Rückstand 42 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 1 mg „
Sa. 43 mg.

Es ist also trotz des langen Dialysierens kein Arsen herausdialysiert.

Fall B. Die Suspensionflüssigkeit war $^n/_{10}$-HCl:
Vom „Arsan“ fanden sich im Rückstand 6 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 1 mg „
Sa. 7 mg.
Von der Arsenik-Glidine-Verreibung fanden sich
im Rückstand 32 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 7 mg „
Sa. 39 mg.

Es ist also aus der angesäuerten Suspensionsflüssigkeit des „Arsans“ der weitaus größte Teil des Arsens, aus derjenigen der Verreibung nur sehr wenig herausdialysiert.

Fall C. Die Suspensionsflüssigkeit war $^n/_{10}$-Sodalösung:
Vom Arsan fanden sich im Rückstand 17 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 4 mg „
Sa. 21 mg.
Von der Arsenik-Glidine-Verreibung fanden sich
im Rückstand 36 mg Arsen,
in der Suspensionsflüssigkeit 3 mg „
Sa. 39 mg.

Aus der Suspensionsflüssigkeit des „Arsans“, die schon aus diesem auffallend wenig aufgenommen hat, ist hier weniger herausdialysiert als bei saurer Lösung, aus derjenigen der Verreibung wieder nur ganz wenig.

3. Es wurde je 1 g des „Arsans“ und der Verreibung mit 30 ccm $^n/_{10}$-HCl und 0,1 g Pepsinum Vinzelberg 72 Stunden bei 38° im Thermostaten geschüttelt. Es hinterblieb in beiden Fällen nur ein minimaler Rückstand, der arsenfrei war. Vom Filtrat wurde die Hauptmenge für den Tierversuch verwendet,

der Rest ohne vorhergehende Neutralisation auf wenige Tropfen eingedampft und mit absol. Alkohol gefällt. Das alkoholische Filtrat war in beiden Fällen arsenfrei.

Genau ebenso wurde verfahren nur mit dem Unterschied, daß als Verdauungsflüssigkeit $^{n}/_{10}$-Sodalösung mit 0,1 g Trypsinum Grübler diente. Die Resultate waren genau entsprechend.

4. Tierversuche. A. Vergleich des „Arsans“ mit der Glidine-Arsenik-Verreibung.

Es wurden zwei Kaninchen von je $2^{1}/_{4}$ kg per os einverleibt: dem einen binnen 6 Tagen im ganzen 40 mg Arsen in Form von „Arsan“ (entsprechend 3 mg pro Tag und Kilogramm Körpergewicht); dasselbe starb in der Nacht zum 7. Tage. Das andere erhielt binnen 7 Tagen 72 mg Arsen in Gestalt der Verreibung (entsprechend nahe an 5 mg pro Tag und Kilogramm Körpergewicht) ohne irgendeine Veränderung zu zeigen.

B. Vergleich der wässerigen Digestionsfiltrate (siehe 1.) mit anorganisch gelöstem Arsen.

Von zwei Meerschweinchen zu je 300 g erhielt das eine binnen 4 Tagen 4 mg Arsen als wässeriges Digestionsfiltrat vom Arsan (gleich 3,3 mg Arsen pro Kilogramm und Tag) und starb am 5. Tage; das andere erhielt binnen 3 Tagen 2,4 mg Arsen als wässerige Natriumarsenitlösung (gleich 2,7 mg pro Kilogramm und Tag) und starb bereits in der Nacht zum 4. Tag. Das Digestionsfiltrat der Verreibung enthielt zu wenig Arsen um irgend giftig zu wirken.

C. Zwei Kaninchen von je $1^{3}/_{4}$ kg Körpergewicht; das eine erhielt von der pepsin-salzsauren Verdauungslösung des „Arsans“ (Nr. 3) binnen 4 Tagen 15 ccm mit 22 mg Arsengehalt (gleich 3 mg pro Tag und Kilogramm Körpergewicht) ohne jeden Schaden. Das andere erhielt von der pepsin-salzsauren Verdauungslösung der Verreibung binnen 3 Tagen 10 ccm mit 15 mg Arsen (gleich 2,9 mg pro Tag und Kilogramm) und starb in der Nacht zum 4. Tag.

Zwei Kaninchen von je 2 kg erhielten von den trypsinalkalischen Verdauungslösungen der beiden Präparate binnen 3 Tagen 10 ccm mit 2,9 mg Arsen und waren am 4. Tage tot.

Aus diesen Versuchen ergeben sich folgende Schlüsse: Aus einer innigen Verreibung von arseniger Säure und trockenem

Eiweiß geht weder in reines Wasser noch in schwache Säure oder Lauge Arsen in erheblicher Menge über; dies erfolgt erst nach vollständiger Verdauung und es zeigt dann die Lösung die gleiche Giftigkeit wie sie der arsenigen Säure allein zukommen würde. Die starke Herabsetzung der Giftigkeit bei Verabreichung der Verreibung ist also offenbar auf die Verzögerung der Resorption infolge des mechanischen Festgehaltenseins der arsenigen Säure durch die quellenden Eiweißpartikel zurückzuführen; Oberflächenvorgänge, „Adsorption", liegen hier unzweifelhaft zugrunde.

Das durch Einwirkung von Arsentrichlorid auf Eiweiß erhaltene Produkt gibt an wässerige Lösungen organische Substanz neben Arsen ab; daß letzteres nicht oder nicht nur als Ammoniumarsenit vorhanden (wofür zunächst das Verhältnis der gefundenen Zahlen für Arsen und Stickstoff im Digestionsfiltrat zu sprechen scheint), dafür zeugt die mangelhafte Diffusion beim Dialysieren gegen fließendes Wasser, die erst bei Ansäuern der Suspensionsflüssigkeit, weniger vollkommen bei Alkalischmachen stattfindet.

Der Umstand, daß nicht nur die wässerige Digestionsflüssigkeit, sondern auch die peptischen und tryptischen Verdauungslösungen des „Arsans" gegenüber reinen Arsenitlösungen und den Verdauungslösungen der Verreibung eine zwar nicht sehr bedeutende, aber durchaus deutliche Herabsetzung der Giftigkeit zeigen, weist darauf hin, daß es im Gegensatz zu dem adsorptiven Festhalten bei der trockenen Verreibung, hier um eine, wenn auch „lockere" chemische Bindung des Arsens an organische Körper, vermutlich hydrolytische Spaltungsprodukte, die unter Einwirkung des Trichlorids in geringer Menge aus dem Eiweiß entstehen, sich handelt.

Untersuchungen über den Inulinstoffwechsel bei Cichorium Intybus L. (Cichorie).

I. Keimungsstoffwechsel.

Von

V. Grafe und V. Vouk.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der k. k. Universität in Wien.)

(Eingegangen am 6. Juli 1912.)

Mit 1 Figur im Text.

Die Umwandlung der Reservestoffe des Samens in Baustoffe des wachsenden Keimlings ist vielfach untersucht worden; besonders die Beziehungen zwischen Reservefett und Kohlenhydraten des Baustoffwechsels, bzw. die gegenseitige Umwandlung von Stärke und Fett haben wiederholt Bearbeitung erfahren. Freilich hat man bei Verfolgung des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels nicht immer genügendes Gewicht auf die Betrachtung des reinen Keimungsstoffwechsels, also auf das Verhalten der im Dunkeln keimenden Samen, für Ausschluß der Assimilationstätigkeit, gelegt.

Dagegen sind nur wenige Erfahrungen über die Keimung solcher Pflanzen gesammelt worden, bei denen Inulin den Reservestoff bildet[1]), keine über die Beziehungen zwischen Reservefett und Reserveinulin. Den meist älteren Arbeiten

---

[1]) J. Sachs, Über die Stoffe, welche das Material zum Wachstum der Zellhäute liefern. Pringsh. Jahrb. d. Botan. **3**, 183, 1863. — Derselbe, Über die Sphärokrystalle des Inulins und dessen mikroskopische Nachweisung in den Zellen. Botan. Zeitg. 22, 77, 1864. — G. Dragendorff, Materialien zu einer Monographie des Inulins. Pharmac. Zeitg. f. Rußland **1870**. — G. Kraus, Das Inulin-Vorkommen außerhalb der Kompositen. Botan. Zeitg. **35**, 329, 1877. — K. Prantl, Das Inulin. München 1870. — J. R. Green, On the germination of the tuber of the Jerusalem Artichoke (Helianthus tuberosus). Annals of Botany **1**, 223, 1887/88. — H. Fischer, Über Inulin, sein Verhalten außerhalb und innerhalb der Pflanze. Cohns Beiträge z. Biol. d. Pflanzen 8, 53, 1902. Hier auch eine Zusammenstellung der gesamten Literatur.

über Inulinstoffwechsel haftet überdies der Mangel an, daß sie sich fast ausschließlich auf mikrochemische Befunde stützen. So wertvolle Dienste die mikrochemische Methode beim Nachweis der verschiedensten Pflanzenstoffe und besonders bei deren Lokalisation im Gewebe leistet, wird sie doch in diesem Falle von der makrochemischen Bestimmung übertroffen, da die einzige Methode, unverändertes Inulin mikrochemisch nachzuweisen, darin besteht, daß die betreffenden Pflanzenteile in absoluten Alkohol eingelegt werden, wobei das Inulin in charakteristischen Sphäriten auskrystallisiert. Das ist aber nur dann möglich, wenn relativ beträchtliche Quantitäten dieses Kohlenhydrats vorhanden sind.

Wir wählten für unsere Untersuchung die Cichorie, eine typische Inulinpflanze, ebenso wie andere Komposititen (Dahlia, Helianthus), deren Wurzeln 57,8 % der Trockensubstanz an Inulin enthalten. Diese Pflanze wurde aber auch deshalb gewählt, weil ihre Wurzeln bekanntlich als Kaffee-Ersatz und -Zusatzstoff eine große praktische Rolle spielen. Die großen Mengen Samenmaterial, die auch schon für diesen Teil unserer Untersuchungen notwendig waren, verdanken wir dem freundlichen Entgegenkommen der Firma Heinr. Franck Söhne, Linz a. D.

Zunächst wurde eine sorgfältige Untersuchung der Samen in bezug auf Fett, reduzierenden Zucker, Inulin und Stickstoff vorgenommen. Die lufttrockenen Samen wurden in einer Mühle zu möglichst feinem Pulver zerrieben, dann am Wasserbad mehrere Stunden erwärmt und schließlich einen Tag lang in den evakuierten Exsiccator über Schwefelsäure gestellt. Auf diese Weise ließ sich eine endliche Konstanz des Gewichtes erhalten, während bei dem sonst üblichen Trocknen im Lufttrockenschrank bei 110° das Gewicht fortwährend durch Tage hindurch abnahm, wobei Karamelisierung und Fettzersetzung stattfand. Als Mittel aus 5 Versuchen ergab sich der Wassergehalt der Samen mit 7,01 %.

Als „Fett" wurde und wird im folgenden das mit Äther Extrahierbare verstanden. Wir gingen ursprünglich nach F. Röhmann[1]) in der Weise vor, daß die zerriebenen Samen zuerst mit Alkohol mehrmals ausgekocht, abgepreßt, getrocknet und dann im Soxhletapparat mit frisch destilliertem Äther extrahiert wurden, während der alkoholische Extrakt nach Abdestillieren

[1]) E. Abderhalden, Handbuch der Biochemischen Arbeitsmethoden II, 200. Wien 1910.

der Hauptmenge des Alkohols mit Äther ausgeschüttelt oder im Extraktionsapparate nach Schacherl mit Äther ausgezogen wurde. Dieses Verfahren lieferte aber äußerst wechselnde, nicht recht glaubhafte Zahlen, und wir kamen erst zu befriedigend übereinstimmenden Ergebnissen, als fein zerriebene Samen verwendet wurden, die in der oben beschriebenen Weise völlig getrocknet worden waren und zur Extraktion sorgfältig durch Schütteln mit Natronlauge, konzentrierter Schwefelsäure, Wasser und metallischem Natrium gereinigter, bzw. getrockneter Äther diente. Das Material wurde dann einfach mit einem Überschuß dieses Äthers mehrere Stunden am Rückflußkühler extrahiert, abgepreßt, mit Äther nachgewaschen, der Äther abdestilliert und der Rückstand nach sorgfältigem Trocknen gewogen. Dabei resultierte in allen Fällen ein hellgelbes (in späteren Keimungsstadien bräunliches) Öl von charakteristischem, nicht unangenehmem Geruch. Der Fettgehalt der Samen beträgt als Mittel aus 10 Versuchen 17,78% der Trockensubstanz.

Die Untersuchung auf Kohlenhydrate erfolgte in der Weise, daß der Rückstand nach der Fettextraktion (das entfettete Pflanzenmaterial wurde quantitativ gesammelt) am Wasserbade etwa eine Stunde lang mit Wasser ausgekocht wurde, wobei die etwa vorhandenen Pflanzensäuren, die eine Inversion des Inulins hätten herbeiführen können, durch Zugabe von ein wenig pulverisiertem $CaCO_3$ abgestumpft wurden. Der abfiltrierte Extrakt wurde mit Bleiacetat behandelt, der ausfallende Niederschlag abfiltriert und im Filtrat das Blei durch 2n-H_2SO_4 ausgefällt, das Filtrat vom $PbSO_4$ auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt, durch Zugabe von festem Na_2CO_3 neutralisiert und in einer bestimmten Menge der reduzierende Zucker nach der Methode von J. Bang[1]) bestimmt. In den ersten Versuchsreihen wurde auch gleichzeitig vergleichend eine Zuckerbestimmung nach der maßanalytischen Methode von Fehling-Soxhlet mit bester Übereinstimmung durchgeführt. Die Samen enthalten (Mittel aus 3 Versuchen) 0,84% reduzierenden Zucker. Der aus einer größeren Extraktmenge dargestellte Zucker erwies sich den charakteristischen Reaktionen nach als Fructose. Eine bestimmte Quantität des Extraktes wurde zur

[1]) I. Bang, Zur Methode der Zuckerbestimmung. Diese Zeitschr. 2, 271, 1906.

Prüfung auf Inulin mit konzentrierter Salzsäure 15 Minuten durch Kochen auf offener Flamme hydrolysiert, mit fester Soda neutralisiert und nunmehr wieder nach Bang die gebildete Lävulose bestimmt. Aus der für den ganzen Extrakt berechneten Lävulosemenge wurde der Inulingehalt nach der Formel $6(C_6H_{10}O_5).H_2O$ (die Tanretsche, von Kiliani angenommene Formel für Inulin) rechnerisch bestimmt. Es fragte sich natürlich, ob die Gesamtmenge des durch Hydrolyse entstandenen Zuckers aus Lävulose bestand, resp. ob nicht neben Inulin etwa Rohrzucker vorhanden war. Es wurde nach Sieben[1]) der Gesamtgehalt an reduzierendem Zucker mittels Fehlingscher Lösung bestimmt, dann eine andere Menge der Flüssigkeit mit Salzsäure 3 Stunden auf dem kochenden Wasserbade erhitzt, wodurch die Fructose zerstört wird, etwa vorhandene Dextrose aber nicht angegriffen wird. Die nunmehr nach Bang untersuchte Probe erwies sich als zuckerfrei, zum Beweis, daß der vordem gefundene Zuckergehalt ausschließlich auf Fructose zu beziehen ist, also nur Inulin, das Polysaccharid der Fructose, vorgelegen hatte. Die makro- und mikrochemische Untersuchung auf Stärke fiel jedesmal negativ aus. An Inulin war in den Samen (als Mittel aus 3 Versuchen) 0,98 % enthalten.

Der Gesamtstickstoff wurde in der üblichen Weise nach Kjeldahl durch Behandeln mit Schwefelsäure unter Verwendung von Quecksilber und Kupfersulfat als Katalysatoren bestimmt. Zur Feststellung des Eiweißstickstoffes wurde das fein zerriebene Material mit ca. 100 ccm 10 %iger NaCl-Lösung ausgekocht, dann ca. 0,4 g aufgeschlemmtes $Cu(OH)_2$ zugesetzt[2]). Zu seiner Herstellung wurden 100 g $CuSO_4$ in 5 l Wasser gelöst, 2,5 ccm Glycerin zugesetzt, mit einer genügenden Menge verdünnter Natronlauge gefällt. Das $Cu(OH)_2$ wurde dann in einer Schale mit Wasser (1 l Wasser + 5 ccm Glycerin) verrieben und das Alkali durch Waschen vollkommen entfernt. Auf diese Weise wurde eine größere Menge $Cu(OH)_2$ hergestellt. Der Eiweißextrakt wurde nun mit dem aufgeschlemmten $Cu(OH)_2$ am Wasserbade erwärmt, der blaugrüne Niederschlag abgenutscht, gewaschen und quanti-

[1]) E. Sieben, Über die Zusammensetzung des Stärkesirups, des Honigs und über die Verfälschungen des letzteren. Zeitschr. d. Vereins f. d. deutsche Zuckerindustrie 1884, 837 u. 865.

[2]) A. Stutzer, Journ. f. Landw. 28, 103 u. 435, 1880; 29, 473, 1880; Zeitschr. f. physiol Chem. 9, 211, 1885.

tativ (unter Auswischen mit Filtrierpapier) in den Kjeldahlkolben gebracht, wo nunmehr der Eiweißstickstoff bestimmt wurde. Die auf Trockengewicht bezogenen Zahlen betragen 3,49 % für Gesamtstickstoff und 1,4 % für Eiweißstickstoff (Mittel aus 4 Versuchen).

Die Samen wurden in üblicher Weise auf feuchtem, weißem, völlig reinem Filtrierpapier zum Keimen ausgelegt, und zwar in der einen Versuchsreihe unter Dunkelstürzen, in der andern unter geräumigen Glasglocken im Lichte, so daß in dem einen Falle an den etiolierten Keimlingen das reine Resultat der Reservestoff-Mobilisierung, in dem andern vergleichend an den grün gewordenen Keimlingen die Keimung unter dem Einflusse der dazutretenden Assimilationstätigkeit studiert werden konnte. Die Anzucht auf Filtrierpapier schloß eine Aufnahme von Stoffen durch die Wurzel aus, nur in einem Falle, bei der Lichtkeimung durch 12 Tage, erfolgte die Kultur in Sägespänen, wobei dann aber natürlich über die Veränderung des Stickstoffes bei der bloßen Keimung nichts ausgesagt werden konnte. Die Versuche wurden nach bestimmten Zeiten abgebrochen, das Keimungsmaterial nach Tunlichkeit vom Filtrierpapier abgelöst, in der Porzellanschale am Wasserbade getrocknet, nachdem durch Stehen unter einer Glocke im äthergesättigten Raume für ein sofortiges Abtöten und die Unterbrechung der Enzymarbeit gesorgt worden war. Das getrocknete Material wurde mit der Mühle fein zermahlen, dann am Wasserbade und schließlich im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz zu Ende getrocknet. Die Resultate der Versuche sind auf den folgenden Tabellen zusammengestellt.

I. Dunkelkeimung.

Keimlinge	Größe der Keimlinge	Gesamt-stickstoff %	Eiweiß-stickstoff %	Fett ätherlösl. %	Fett Säurezahl	Reduz. Zucker %	Inulin %	H_2O %
Samen . . .	—	3,49	1,4	17,78	1,2	0,84	0,98	7,01
Nach 2 Tagen	Würzelchen 0,5—1 cm	3,74	0,71	10,0	1,2	0,42	0,84	—
„ 4 „	Stengel 0,5—1 cm	3,32	0,7	9,2	6,8	2,03	0,95	—
„ 6 „	1—2 cm	3,36	0,6	7,4	3,2	3,34	1,82	—
„ 8 „	2,5—3,5 cm	3,5	0,6	6,5	5,8	2,86	2,00	—
„ 10 „	3,5—5 cm	3,2	0,6	5,8	6,3	2,12	2,86	—

In den vorliegenden Versuchen erscheint zunächst zum erstenmal eine genaue Analyse der Samen von Cichorie in bezug auf organische Substanzen durchgeführt, denn eine ältere Angabe über das Vorhandensein von Inulin im Cichoriensamen[1]) war nicht auffindbar. Aus den Analysen geht hervor, daß der Cichoriensamen einen typischen Fettsamen mit fast 18 °/₀ Fett als Reservestoff darstellt, daneben aber auch Inulin und Lävulose enthält, welch letztere wohl einem bei der Kondensation der Monose zum Polysaccharid zurückbleibenden Gleichgewichtsrest entsprechen dürfte. Bei der Keimung ergeben sich deutliche Beziehungen zwischen Fett und den Kohlenhydraten, indem schon nach zweitägiger Keimung eine rapide Verminderung von Fett und Monose sich zeigt, während das Inulin relativ wenig abnimmt. Die Verringerung des Fettgehaltes geht von da an regelmäßig, wenn auch stetiger, weiter, auf seine Kosten ist schon nach 4 Tagen fast das dreifache des ursprünglichen Samenzuckers gebildet; wahrscheinlich übersteigt die Zuckerbildung aus Fett diesen Betrag sogar beträchtlich, aber das gebildete Monosaccharid wird offenbar sofort zu Inulin kondensiert, dessen Menge ebenso stetig wächst, wie der Fettgehalt abnimmt, während die Lävulose nach dem 6. Keimungstage sogar eine, wenn auch kleine Verminderung zeigt.

II. Lichtkeimung.

Keimlinge	Größe der Keimlinge	Gesamtstickstoff °/₀	Eiweißstickstoff °/₀	Fett: ätherlösl. °/₀	Fett: Säurezahl	Reduz. Zucker °/₀	Inulin °/₀
Nach 3 Tagen	höchstens 1 cm lang	3,0	1,7	10,8	3,9	2,5	0,82
„ 6 „	1—2 „ „	3,6	1,8	6,7	—	1,5	kein Inulin
„ 9 „	2—3 „ „	3,2	1,8	5,0	—	3,0	0,5
„ 12 „	3—4 „ „	—	—	4,9	—	2,8	2,1

Der Fettgehalt vermindert sich hier schneller als bei der Dunkelkeimung. Der reduzierende Zucker hat auch hier nach dreitägiger Keimung stark zugenommen, aber die Kondensation zu Inulin erscheint im Lichte gehemmt; nach 6 Tagen ist über-

[1]) Daniel, Chem. Centralbl. 2, 443, 1889 (nach E. v. Lippmann, Die Chemie der Zuckerarten, 3. Aufl. I, 795. Braunschweig 1904).

haupt kein Inulin vorhanden, da das Reserve-Inulin bei der Keimung verbraucht, neues aber noch nicht gebildet wurde. Wir sehen also Fett in reduzierenden Zucker übergehen, dieser wird aber nicht, wie bei der Dunkelkeimung, neben dem Aufbau von Zellsubstanz zu Inulin kondensiert, sondern offenbar gleich im Baustoffwechsel weiter verarbeitet, in den auch das vorhandene Inulin eingeht. Dann erst erfolgt bei einsetzender Assimilationstätigkeit Neubildung von reduzierendem Zucker und gleichzeitig damit eine Neubildung von Inulin. Hier ist es aber sicher nicht eine einfache Beziehung zwischen den beiden Kohlenhydraten, sondern wir sehen im weiteren Verlaufe der Keimung den Monosegehalt konstant bleiben oder sogar etwas kleiner werden, während der Inulinbetrag stark ansteigt. Es findet also bei der Assimilation sofort eine Bildung von Inulin statt, das Inulin wird also nicht, wie man sich vielfach vorgestellt hat, erst durch Kondensation der in die Wurzel einwandernden Monose als Aufstapelungsprodukt gebildet, sondern entsteht wahrscheinlich schon, analog der Bildung der autochtonen Stärke, während der Assimilation.

Auf die Veränderung der konstitutiven Zusammensetzung des Fettes wurde vorläufig noch kein Augenmerk gerichtet; die gelegentliche Feststellung der Säurezahl ergab erhebliche Schwankungen im Betrage der freien Fettsäuren während der Dunkelkeimung, die nach anfänglicher Konstanz rapid zunahmen, um sich dann zu verringern und darauf wieder zuzunehmen. Bei der Lichtkeimung tritt die Fettspaltung früher und in größerem Betrage ein.

Der Gesamtstickstoff hält sich naturgemäß während der Licht- und Dunkelkeimung auf gleicher Höhe, da das Kulturmaterial keine Stickstoffquelle bietet. Der Eiweißstickstoff nimmt in den ersten Tagen der Dunkelkeimung um 50% ab, hält sich aber im weiteren Verlaufe auf einem Minimum des Betrages konstant. Bei der Lichtkeimung ist eine solche Abnahme nicht zu beobachten. Nach 6 Tagen z. B. erreicht hier seine Menge das Dreifache der bei der Dunkelkeimung beobachteten, dann wird sie ebenfalls konstant auf dieser Höhe festgehalten. Offenbar erfolgt die Bildung von Eiweiß (vielleicht Plasmaeiweiß) auf Kosten anderer stickstoffhaltiger Nicht-

eiweißkörper im Einvernehmen mit dem vermehrten Zucker. Die besprochenen Verhältnisse sind in den nachfolgenden Kurven wiedergegeben.

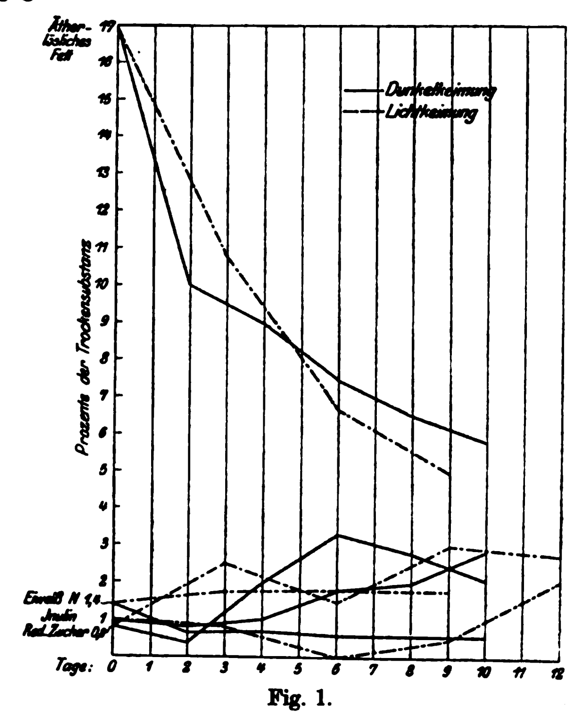


Fig. 1.

Dazu wäre noch zu bemerken, daß natürlich eine kleine Ungenauigkeit in dem Umstande liegt, daß in den gegebenen Zahlen, wie sie sich in den Kurven ausdrücken, alles auf eine einheitliche, unveränderte Trockensubstanz bezogen ist, was insofern einen Fehler bedingt, als ja während der Keimung ein fortwährender Trockengewichtsverlust durch Dissimilation sich ergibt. Die Differenzen sind aber während der in unseren Versuchen eingehaltenen Zeiten so unbedeutend, daß wir sie vernachlässigen zu können glauben.

Die mikrochemische Untersuchung der Keimlinge, gleichgültig ob sie im Dunkel oder Licht erwachsen waren, ergab in keinem Falle das Auftreten von Stärke. Wohl zeigten sich bei den Lichtpflanzen in der Gefäßbündelscheide unterhalb der Keimblätter in einer ca. 5 bis 8 mm großen Zone des Stengels farblose rundliche Gebilde, während im weiteren Stengel nach

unten bis zur Wurzel kaum etwas davon zu sehen war. Diese körnigen Gebilde verschiedenen, unregelmäßigen Charakters färbten sich mit Jodtinktur, Jodchloralhydrat o. dgl. jedoch niemals blau, sondern mehr oder weniger rotbraun. Eine ähnliche Reaktion hat schon Prantl (l. c.) beobachtet; vielleicht handelt es sich um dextrinartige Substanzen. Hönig und Schubert[1]) haben nämlich beobachtet, daß beim Kochen von Inulinlösung mit verdünnten Mineralsäuren das Maximum an Fructose binnen 15 bis 20 Minuten gebildet wird, wobei als Zwischenprodukte der Hydrolyse dextrinartige Stoffe auftreten. Auch die dem Inulin ähnlichen Kohlenhydrate, die dasselbe in den inulinführenden Substanzen begleiten, haben wir, wie wir glauben, in den Cichorienkeimlingen gefunden, namentlich Inulenin, das in schönen Nadeln krystallisiert; wenigstens konnten wir in mikroskopischen Präparaten von Extrakten aus Keimlingen ein Haufwerk schöner farbloser Nadeln organischer Natur sehen.

Als wesentlichstes Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen möchten wir 1. die festgestellten Beziehungen des Inulins zum Reservefett, nämlich Entstehung von Inulin aus Fett beim Keimungsprozeß, und 2. die Entstehung des Inulins als höchstwahrscheinlich unmittelbares Produkt der Kohlensäureassimilation ansehen; außerdem wurde hier zum ersten Male mit voller Sicherheit das Auftreten von Inulin im Samen konstatiert[2]). Was den ersten Punkt anlangt, so liegt für den entgegengesetzten Fall der Umwandlung von Inulin in Fett eine Angabe von H. Fischer (l. c.) vor, der in den Stielen halbreifer Früchte von Selliera radicans in beträchtlicher Menge Inulin fand. Dieses Inulin entsteht nach dem genannten Autor aus Stärke und geht dann als Fett in die reifenden Samen über. Ein ähnlicher Fall dürfte bei dem Inulin der Cichorie stattfinden, mit Ausnahme des Umweges über die Stärke. Wir können uns vorstellen, daß das Inulin, das bei der Assimilation gebildet wird, als solches oder in Form seines Hydrolyseproduktes Lävulose wandert und als Fett in die reifenden Samen übergeht, wobei ein relativ kleiner Teil als unverändertes Inulin mit in die Samen gelangt. Beim Aus-

[1]) Hönig und Schubert, Monatshefte f. Chem. 8, 529, 1882.

[2]) E. Abderhalden, Biochemisches Handlexikon II. Wien 1910.

keimen des Samens vollzieht sich dann wieder der umgekehrte Prozeß der Umwandlung von Fett in Lävulose und dieser in Inulin. Was den zweiten Punkt, die Bildung von Inulin während der Assimilation, anlangt, so steht dieser Befund im Gegensatz zu der früheren Anschauung, daß Inulin überall und immer nur für Zwecke der Speicherung erzeugt wird (H. Fischer l. c.). Wir finden schon unmittelbar nach dem Einsetzen der Assimilationstätigkeit Neubildung von Inulin vor, wobei, wenigstens in den Keimlingen, niemals Stärke, sondern höchstens dextrinartige Zwischenprodukte auftreten. Tatsächlich wurde in einem Falle im Extrakte neuntägiger Lichtpflanzen eine kleine Menge Traubenzucker gefunden, der jedenfalls aus den genannten Zwischenprodukten stammte. Wir können uns also den Gang der Inulinbildung bei der Assimilation in der Weise vorstellen, daß primär Glucose gebildet wird, die sich zum Teil zu Dextrinen kondensiert, zum größeren Teil aber in Lävulose übergeht, die ebenso zu Inulin kondensiert wird wie bei den Stärkepflanzen die Monosen der Assimilation zu Stärke. Auch zwischen Inulin und Fett herrscht ja, wie aus unseren Versuchen hervorgeht, dasselbe Verhältnis wie zwischen Stärke und Fett[1]). Das gebildete Inulin dient aber direkt oder nach seiner Hydrolyse dem Baustoffwechsel und wird in Form von Fett in den Samen gespeichert.

In einer Folge weiterer Versuche soll der Stoffwechsel während der Assimilation der Cichorienpflanze, wieder mit besonderer Berücksichtigung des Inulins, studiert und auch der Entstehung des in der Wurzel vorhandenen, noch ganz unbekannten Bitterstoffes Aufmerksamkeit geschenkt werden. Es ist ferner beabsichtigt, die Lokalisation des Inulins in der Pflanze festzustellen, zu welchem Zwecke auf die Ausarbeitung einer mikrochemischen Methode zum Inulinnachweis hingewirkt werden soll. Schließlich soll in einem dritten Teile das Austreiben der überwinternden, Inulin führenden Wurzel chemisch verfolgt werden.

---

[1]) Sachs (Über das Auftreten von Stärke bei der Keimung ölhaltiger Samen, Botan. Zeitg. 17, 177, 1859) hat unter den ersten gezeigt, daß bei der Keimung ölhaltiger Samen Stärke aus Fett entsteht. In unseren Versuchen, in denen wir eine Bildung von Inulin aus Öl nachgewiesen haben, ist eine vollständige Analogie zu den obengenannten Versuchen gegeben.

Über die photochemische Synthese der Kohlenhydrate.

Bemerkungen zu der Arbeit von Stoklasa, Sebor und Zdobnický.

Von

Walther Löb.

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 7. Juli 1912.)

In meinen Bemerkungen[1]) zu der ersten Arbeit von Stoklasa und Zdobnický[2]) habe ich an Hand der von ihnen ausgeführten Versuche auseinandergesetzt, daß ihre Untersuchungen keinerlei neue Tatsachen gebracht haben, da sowohl die Bildung von Formaldehyd aus Kohlensäure und Wasser und Kohlensäure und Wasserstoff, wie auch die Umwandlung des Formaldehyds durch Alkalien in Zuckerarten bekannte Erscheinungen sind. In ihrer neuen Arbeit[3]) gehen Stoklasa und seine Mitarbeiter mit keinem Wort auf meine sachlichen Einwände ein, sondern betonen nur wiederum, daß sie die ersten gewesen sind, die eine photochemische Assimilation der Kohlensäure ohne Chlorophyll durchgeführt haben. Demgegenüber ist zunächst allgemein zu bemerken, daß es der Sachlage nicht entspricht, die längst bekannte und nicht zum photochemischen Versuch gehörende Kondensation des Formaldehyds durch Alkalien als Teilprozeß eines photochemischen Problems zu bezeichnen und in Anspruch zu nehmen.

Nur die Bedeutung der Frage der künstlichen Kohlensäureassimilation veranlaßt mich, auch die in der letzten Arbeit mitgeteilten Versuche einer kritischen Besprechung zu unter-

[1]) Diese Zeitschr. **31**, 358, 1911.
[2]) Diese Zeitschr. **30**, 433, 1911.
[3]) Diese Zeitschr. **41**, 333, 1912.

ziehen, wobei ich mich lediglich auf den maßgebenden chemischen Teil beschränke.

1. Oxydation des Formaldehyds in alkalischer Lösung. Stoklasa und seine Mitarbeiter haben durch Bestrahlung einer Formaldehydlösung in 7%iger Kalilauge ohne Sauerstoffdurchleitung keine Ameisensäure erhalten, mit Sauerstoffdurchleitung hingegen wohl. Sie schreiben: „Diese Experimente belehren uns, daß unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen aus Formaldehyd nicht sofort Kohlendioxyd und Wasser entsteht, sondern daß sich aus dem Formaldehyd zuerst Ameisensäure bildet."

Der Versuch ohne Sauerstoffdurchleitung ist falsch. Wie längst bekannt[1]), bildet Formaldehyd in Berührung mit Alkalien neben und unabhängig von der Zuckerkondensation Ameisensäure und Methylalkohol. Nichtsdestoweniger habe ich den Versuch bei 58° (der Versuchstemperatur von Stoklasa) noch einmal wiederholt und erhielt bereits nach kurzer Zeit reichlich Ameisensäure. Es empfiehlt sich, die Reaktionen auf Ameisensäure erst nach dem Ausäthern der letzteren aus der angesäuerten Lösung anzustellen, da die konzentrierte Lösung der Chloralkalien speziell die Ausscheidung des Kalomels hemmt.

In dem Versuch mit Sauerstoffdurchleitung, der durch die Tatsache, daß Formaldehyd immer mit Kalilauge Ameisensäure bildet, schon an und für sich völlig wertlos ist, fehlt, wie bei allen andern, der Vergleich mit Lösungen, die in gleicher Weise, aber ohne ultraviolette Strahlen behandelt worden sind.

2. Oxydation der Ameisensäure. Nach Stoklasas und seiner Mitarbeiter Angaben soll Ameisensäure in alkalischer Lösung durch die Einwirkung der ultravioletten Strahlen unter Sauerstoffdurchleitung in sehr geringem Maße zu Kohlensäure und Wasser oxydiert werden. Auch hier fehlt jeder Nachweis, daß Sauerstoff ohne ultraviolette Strahlen nicht qualitativ ebenso wirkt. Jedoch ist ein Unterschied wegen der unter der Einwirkung ultravioletter Strahlen bekanntlich stattfindenden Ozonbildung zu erwarten.

3. Einfluß der ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Gegenwart von Ferroverbindungen.

---

[1]) Vgl. z. B. Délepine, Bull. soc. chim. 17, 939, 1897. — Nef, Lieb. Ann. 335, 247, 1904. — Euler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 39, 39, 1906.

Stoklasa und seine Mitarbeiter schreiben mit Bezug auf diese Versuche: „Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß durch den Einfluß der ultravioletten Strahlen auf Kaliumbicarbonat bei Gegenwart von Ferroverbindungen eine Synthese der Monosaccharide stattfindet."

Auch hier handelt es sich um eine verkehrte Beurteilung der Versuchsbedingungen durch die Experimentatoren. Es ist bekannt, daß Eisenoxydulsulfat in Gegenwart von Kalilauge bei höherer Temperatur Wasserstoff entwickelt[1]). Wie ich mich überzeugt habe, ist auch bei gewöhnlicher Temperatur — die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht erhöht aber die Temperatur ganz erheblich — die Wasserstoffbildung bei der von Stoklasa gewählten Anordnung eine reichliche. Zu 300 ccm 7%iger Kalilauge ließ ich 15%ige Eisensulfatlösung zutropfen, während gleichzeitig ein starker Strom Kohlensäure durchgeleitet wurde. Die Gase wurden über konzentrierter Kalilauge aufgefangen und das sich ansammelnde Gas analysiert. In 10 Minuten erhielt ich so bereits 13,8 ccm reinen Wasserstoff, und es ist keine Frage, daß die Wasserstoffbildung in dem Stoklasaschen Versuche durch die höhere Temperatur eine noch reichlichere war. Der Versuch Stoklasas und seiner Mitarbeiter kommt also darauf hinaus, daß Kohlensäure und Wasserstoff, wie bekannt, unter der Einwirkung ultravioletter Strahlen Formaldehyd bilden. Daran schließt sich dann die gleichfalls bekannte Umwandlung des Formaldehyds durch Alkalien zu Zuckerarten.

4. Obgleich die durch Alkalien aus Formaldehyd entstehenden Hexosen bereits mehrfach untersucht[2]) und als ein kompliziertes Gemisch erkannt worden sind, unterziehen Stoklasa und seine Mitarbeiter dieses Gemisch einer erneuten Untersuchung. Von Interesse ist lediglich ihre Angabe, daß sie durch Polarisation ihrer Lösung eine Drehung von 0,15° im 2 dcm-Rohr erhielten. Nach ihren Mengenangaben müssen demnach etwa 24% des erhaltenen Zuckers (auf Glucose berechnet) optisch aktiv sein! Nach diesem experimentellen Befunde über-

---

[1]) Vgl. z. B. Mendelejeff, Grundlagen der Chemie. Petersburg 1891, S. 1014.

[2]) Z. B. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **21**, 988, **22**, 359; Loew, ibid. **21**, 271; C. Neuberg, ibid. **35**, 2632 u. a. a. O.

rascht einigermaßen die Angabe: „Die untersuchte Lösung dieser Hexosen zeigte sich optisch inaktiv."

Es geht also aus der Betrachtung der Versuche auch der letzten Arbeit von Stoklasa und seinen Mitarbeitern hervor, daß sie, ebenso wie in der früheren, keinerlei neue Ergebnisse gefunden haben, und daß ihre Versuche nicht mit derjenigen experimentellen Kritik ausgeführt sind, die das Problem erfordert. Es erübrigt sich demnach, auf die weiteren Ausführungen der Arbeit einzugehen.

Noch eine kurze Bemerkung über die Beziehung der stillen Entladung zu den ultravioletten Strahlen. Nach Warburgs[1]) und Goldsteins[2]) Versuchen ist die chemische Wirksamkeit der Entladung hauptsächlich auf ultraviolette und Kathodenstrahlen zurückzuführen. Die Entladung und die Quecksilberquarzlampe sind für die Reduktion der Kohlensäure und die sich anschließenden Synthesen brauchbare Energiequellen. Dem auf die Erdoberfläche gelangenden Sonnenlicht dürften beide wohl gleich fern stehen. Daß in der Tat die chemische Wirkung der Entladung der ultravioletten Strahlen gleichartig ist, zeigen die von Berthelot und Gaudechon[3]) und neuerdings die von Přibram und Francke[4]) mit ultravioletten Strahlen erhaltenen Zersetzungen und Synthesen. Nach den Versuchen der Letztgenannten kondensiert sich Formaldehyd durch ultraviolettes Licht zu Glykolaldehyd, den ich ebenso durch stille Entladung erhalten hatte[5]). Daneben tritt, gleichfalls im Einklang mit meinen Beobachtungen, Zersetzung in Kohlensäure, Kohlenoxyd, Wasserstoff und Methan auf. Die bei der ultravioletten Bestrahlung des Formaldehyds gebildete Ameisensäure, deren Auftreten Přibram und Francke wegen des Fehlens von Sauerstoff überrascht, entsteht höchstwahrscheinlich hier, ebenso wie bei den Entladungsversuchen, durch die Wechselwirkung der Zersetzungsprodukte Kohlensäure und Wasserstoff oder Kohlenoxyd und Wasser.

---

[1]) Annal. d. Phys. [4] **13**, 464, 1903.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Gesellsch. **36**, 3042, 1903.

[3]) Compt. rend. **150**, 1169, 1327, 1517, 1690; **151**, 395 u. a. a. O.; **152**, 262, 383, 522.

[4]) Sitzungsber. d. Wien. Akad., Mathem.-naturwiss. Klasse **121**, Febr. 1912.

[5]) Zeitschr. f. Elektrochemie **12**, 282, 1906.

Über das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffs.

Von

W. Manchot.

(Aus dem chemischen Institut der Universität Würzburg.)

(Eingegangen am 12. Juli 1912.)

Kürzlich haben die Herren W. Heubner und H. Rosenberg[1]) in dieser Zeitschrift eine Untersuchung über Blutspektren veröffentlicht, in der sie sich auch mit meiner Arbeit über das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes[2]) beschäftigen. In jener Untersuchung hatte ich festgestellt, daß der Blutfarbstoff beim Verdünnen von Blut mit Wasser, isotonischen und hypertonischen Lösungen eine Zunahme des Gasbindungsvermögens zeigt. Heubner und Rosenberg meinen nun, es sei ausgeschlossen, daß eine bedeutende Änderung des Gasbindungsvermögens des Blutfarbstoffes mit wechselnder Konzentration stattfinde, weil in isotonischen Lösungen die Konzentration der in Reaktion tretenden Hämoglobinmoleküle im Blutkörperchen gar nicht verändert werde. Die Bemerkung der Herren Heubner und Rosenberg beruht ohne Zweifel darauf, daß sie als mögliche Wirkung der Verdünnung nur die Veränderung des Verhältnisses zwischen Hämoglobinmolekülen und gelösten Sauerstoffmolekülen ins Auge fassen. Ich gebe jedoch gern zu, daß die von ihnen berührte Frage eine Lücke in meiner früheren Darstellung betrifft. Auch mich hat diese Frage schon vielfach beschäftigt und, da ich sie jetzt unter einem neuen Gesichtspunkte zu betrachten imstande bin, möchte ich darauf im folgenden etwas näher eingehen.

Stellen wir uns also auf den Standpunkt, daß durch Zusatz eines isotonischen oder hypertonischen Verdünnungsmittels

---

1) Diese Zeitschr. **38**, 345, 1912.

2) Liebigs Annal. **370**, 241, 1909.

die Konzentration des Blutfarbstoffes gar nicht verändert werde, da dieser ja innerhalb der Blutkörperchen selber konzentriert bleibt, so ist es deshalb noch lange nicht unmöglich, daß eine Änderung der Gasbindungsfähigkeit des Blutfarbstoffes mit der Verdünnung eintritt. Man braucht nämlich nur die Annahme zu machen, daß das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes noch durch eine andere in dem Blute befindliche Substanz beeinflußt wird, um zu erkennen, daß von einer Unmöglichkeit, die von mir gefundene Erscheinung zu erklären, nicht gesprochen werden kann. Eine solche Annahme würde offenbar selbst dann ohne weiteres als zulässig erklärt werden müssen, wenn wir noch gar keine Substanz kennten, welche auf das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes von Einfluß ist. In Wirklichkeit kennen wir aber bereits eine chemische Substanz, welche das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes in hervorragendem Maße beeinflußt; es ist dies die im Blute befindliche Kohlensäure. Die Kohlensäure beschlagnahmt mit einer konkurrierenden Reaktion den Blutfarbstoff. Wenn wir also das Blut mit einer Lösung verdünnen, die von Kohlensäure frei ist, so wird diese konkurrierende Reaktion zurückgedrängt werden und dadurch das Gasbindungsvermögen des Blutfarbstoffes zunehmen müssen. Es liegt ja auf der Hand, daß man ein Blutkörperchen nicht wie eine nach außen fest verschlossene Flasche betrachten darf, sondern daß es ein System mit — wenigstens für viele Stoffe, insbesondere für Gase — durchlässigen Wänden ist. Es wird also ein Ausgleich der Kohlensäurekonzentrationen innerhalb und außerhalb der roten Blutkörperchen eintreten.

Hierdurch erklärt sich zwanglos die von mir beobachtete Erscheinung, und man versteht auch manche Einzelheiten; z. B. versteht man, daß ganz kohlensäurefreie Verdünnungsmittel stärker wirken als kohlensäurehaltige, wie z. B. Serum, welch letzteres bei meiner Versuchsanordnung durch vorhergehendes Evakuieren von seinem Kohlensäuregehalt zwar zu einem großen Teile befreit war, aber natürlich noch Kohlensäure enthielt. Man versteht weiter, warum die durch erhöhten Sauerstoffdruck bewirkbare Zunahme des Gasbindungsvermögens verhältnismäßig klein ist im Vergleich zu der durch Verdünnung zu erzielenden, d. h. man versteht, warum die Druckkurve einen so steilen

Verlauf nimmt. Denn durch Druck läßt sich innerhalb eines Blutkörperchens die Konzentration von Sauerstoff (bzw. CO) in Anbetracht ihres an sich schon geringen Betrages nur unwesentlich erhöhen, während andererseits die Konzentration der Kohlensäure unvermindert bleibt.

Früher wurde wohl darüber debattiert, ob die Kohlensäure in gleicher Weise gebunden sein könne wie Sauerstoff oder Kohlenoxyd. Dieser Streit ist aber gegenwärtig vollständig gegenstandslos geworden, nachdem die Untersuchung zahlreicher komplexer Metallsalze gezeigt hat, daß in diesen die verschiedenartigsten Moleküle sich gegenseitig vertreten können, wie z. B. Sauerstoff, Wasser, Ammoniak, Natriumsulfit u. a. gleichwertig füreinander eintreten. Ja, man braucht auch gar nicht einmal mehr anzunehmen, daß die Bindung von Kohlensäure und Sauerstoff ganz gleichartig sein müsse, wenn eine konkurrierende Reaktion zwischen Kohlensäure- und Sauerstoffbindung stattfindet; denn man weiß jetzt, namentlich durch die Untersuchungen von Werner, daß gerade bei diesen Substitutionen in komplexen Metallsalzen der eintretende Substituent durchaus nicht immer an denselben Ort tritt wie das Radikal, welches er ersetzt, daß er also durchaus nicht immer in ganz gleichartiger Weise wie letzteres gebunden wird. Es besteht daher auch keine prinzipielle Schwierigkeit gegenüber der Erscheinung, daß bei weiterem Verdünnen das Gasbindungsvermögen wieder abnimmt, denn es ist leicht erklärlich, daß bei übermäßiger Verdünnung, sei es hydrolytisch spaltende Prozesse erfolgen, sei es Wassermoleküle an die Stellen treten im komplexen metallhaltigen Kern, welche sonst Sauerstoff bzw. Kohlenoxyd oder Kohlensäure aufzunehmen vermögen. Nun ist zu erwarten, daß solche hydrolytische Prozesse bei hämolysierenden Verdünnungsmitteln stärker auftreten werden wie bei nicht hämolysierenden, sowie daß Alkalien nach allgemeinen Erfahrungen diese hydrolytische Wirkung noch stärker ausüben werden wie Wasser allein. Es tritt also bei den hämolysierenden Verdünnungsmitteln, namentlich aber bei den Alkalien, ein besonders kompliziertes Zusammenspiel konkurrierender Reaktionen ein (infolge Verschiebung des Verhältnisses zwischen Hämoglobin und CO_2, des Verhältnisses zwischen Hämoglobin und Carbonaten und des Verhältnisses zwischen Hämoglobin und Sauerstoff, sowie

durch Verstärkung der Hydrolyse), und es läßt sich nicht im voraus ableiten, welchen Gesamteffekt dieses komplizierte Zusammenspiel haben muß. Meine früher mitgeteilten Versuche haben ergeben, daß dieser Gesamteffekt eine Depression des Gasbindungsvermögens im Vergleich mit der Wirkung isotonischer Lösungen ist, eine Depression, welche bei Wasser gering ist, stärker bei den Alkalien.

Es lassen sich auch Analogien für den Vorgang, der hier statthat, bei rein chemischen Prozessen jetzt feststellen. So habe ich neuerdings beobachtet, daß in den Salzen des Ferropentacyanmonammins $R_3FeCy_5NH_3$ Kohlenoxyd bindende Eisensalze vorliegen, in welchen Kohlenoxyd an die Stelle von NH_3 tritt. Hier läßt sich durch Anwendung einer Ammoniaklösung die Kohlenoxydaufnahme überhaupt verhindern. Andererseits zeigt sich die Menge des aufgenommenen Kohlenoxydes auch hier wieder abhängig von der Konzentration der kohlenoxydbindenden Substanz. Da aber in diesem Falle das Kohlenoxyd nicht abspaltbar ist, sondern fest gebunden wird, ist es deutlich, wie an anderer Stelle näher ausgeführt wird, daß die Wirkung der Verdünnung nicht in der Verschiebung des Verhältnisses zwischen Metallsalz und aufzunehmendem Gas, sondern in der Verschiebung des Verhältnisses zwischen Metallsalz und abzudrängendem Bestandteil besteht. Ein anderer, fast noch instruktiverer Analogiefall ist, wie ich erst nachträglich bemerke, schon in einer meiner früheren Arbeiten enthalten, nämlich in meiner Untersuchung über die Cuproverbindungen des Kohlenoxydes[1]). Hier wird in salzsauren Lösungen die Kohlenoxydbindung des Kupferchlorürs

$$CuCl + CO + 2\,H_2O \rightleftarrows CuClCO.2\,H_2O$$

herabgedrückt durch die konkurrierende Reaktion des Kupferchlorürs mit der Salzsäure $CuCl + HCl = CuCl.HCl$, woraus resultiert:

$$CuClCO.2\,H_2O + HCl \rightleftarrows CuCl.HCl + CO + 2\,H_2O.$$

Gehen wir hier von einem Versuche, wo in einer Salzsäure von bestimmter Konzentration eine bestimmte Menge Kohlenoxyd gebunden wird, zu einem anderen Versuche über, bei welchem unter Gleichhaltung aller übrigen Umstände, insbesondere der Kupferkonzentration, nur der HCl-Gehalt der Lösung ver-

[1]) Manchot und Friend, Liebigs Annal. 359, 100, 1908.

mindert ist, so beobachten wir, daß das Gasbindungsvermögen des Metallsalzes zunimmt. Wir haben also hier den Fall realisiert, daß wir die Konzentration des konkurrierenden Stoffes (HCl) vermindern, aber die Konzentration des CO-bindenden Stoffes (CuCl) konstant halten, mit anderen Worten: wir haben Analoges, wie in einem roten Blutkörperchen, wo wir durch die Verdünnung mit einer isotonischen Lösung das Verhältnis zwischen Hämoglobinmolekülen und Sauerstoff bzw. Kohlenoxyd nicht ändern, aber das Verhältnis zwischen Sauerstoff und der konkurrierenden Kohlensäure durch Zugabe eines kohlensäurefreien Verdünnungsmittels erheblich zu Ungunsten der CO_2-Bindung verschieben. Bei zu weit gehender Verdünnung tritt bei dem Kupferchlorür eine weitere Analogie zu den Versuchen mit dem Blute auf, nämlich das Gasbindungsvermögen nimmt wieder ab, indem Hydrolyse des Kupferchlorürs eintritt, ähnlich wie bei zu weit gehender Verdünnung des Blutes das Gasbindungsvermögen zurückgeht.

Ich möchte schließlich noch darauf hinweisen, daß sich eine vereinfachte Vorstellung vom Mechanismus der Atmung daraus ergibt, daß das Hämoglobin Kohlensäure und Sauerstoff in konkurrierenden Reaktionen bindet. Dabei bleibt natürlich dahingestellt, wie man sich das Zustandekommen des Gleichgewichtes zwischen diesen konkurrierenden Reaktionen denken will. Ob man sich vorstellen will, daß Hämoglobinmoleküle, die nur Kohlensäure gebunden haben, neben solchen auftreten, die nur Sauerstoff enthalten, oder ob man auch die Anwesenheit solcher in Betracht ziehen will, die sowohl Sauerstoff wie Kohlensäure an demselben Molekül gebunden enthalten, das kann man zurzeit nach Belieben sich denken. Für den Endeffekt kommen diese verschiedenen Vorstellungen auf dasselbe hinaus.

Mir will also scheinen, daß die von mir gegebene Deutung meiner Versuche sich nicht auf hypothetischer Grundlage, sondern auf einem sehr realen Boden bewegt, und zwar in dem Grade, daß man die von mir beobachtete Wirkung der Verdünnung eigentlich a priori als notwendig hätte voraussagen können, wenn man über die Wirkung, welche die Verdünnung auf das Zusammenspiel der beiden konkurrierenden Reaktionen Kohlensäure- und Sauerstoffbindung ausüben muß, bereits vor Anstellung der Versuche ins klare gekommen wäre. Gerade der

Umstand, daß letzteres erst jetzt, d. h. nachträglich und viel später erfolgt ist, scheint mir indessen für die objektive Beurteilung der ganzen Sachlage nicht ohne Wert zu sein.

Zum Schluß noch ein Wort zu den übrigen Bemerkungen von Heubner und Rosenberg. Ich kann mich hier kurz fassen, da ich geneigt bin zu glauben, daß die Verfasser auf dieselben, insbesondere auf den negativen Erfolg ihrer optischen Versuche, ein geringeres Gewicht gelegt haben würden, wenn sie nicht geglaubt hätten, den oben widerlegten prinzipiellen Einwand erheben zu können. Es darf hier zunächst wohl bemerkt werden, daß chemische Versuche über die Quantitäten gebundener Gase nicht durch negative optische Beobachtungen widerlegt werden können. Die beiden Autoren gehen von der nicht bewiesenen Voraussetzung aus, daß die Zunahme der Gasbindung mit der Verdünnung auch in einer Zunahme der Farbintensität zum Ausdruck kommen müsse. Sie vergewissern sich aber nicht genügend, ob unter den von ihnen gewählten Bedingungen der Effekt der Verdünnung auf das Gasbindungsvermögen überhaupt ein erheblicher sein kann. Vielmehr sind bei ihren Versuchen eine Reihe von Umständen geeignet, diesen Effekt sehr stark herabzudrücken, und hieraus lassen sich sehr erhebliche Einwände dagegen erheben, daß aus jenen optischen Beobachtungen überhaupt Schlüsse gezogen werden. Während bei meinen Versuchen der Verdünnungseffekt bei Anwendung von Sauerstoff schon etwas geringer ist wie bei der Anwendung von Kohlenoxyd, arbeiten Heubner und Rosenberg sogar mit Luft, also mit niedrigem Partialdruck. Sie arbeiten auch nicht bei 0°, sondern, da letzteres wegen des Beschlagens der Apparate nicht möglich ist, bei höherer Temperatur (eine Temperaturangabe ist nicht gemacht). Erniedrigung des Partialdruckes und Erhöhung der Temperatur vermindern aber den Effekt der Verdünnung auf das Gasbindungsvermögen. Heubner und Rosenberg verfolgen nun nicht die Wirkung der Verdünnung auf Blut von natürlicher Konzentration, sondern sie vergleichen den optischen Effekt einer Verdünnung 1 : 10 mit demjenigen einer Verdünnung 1 : 62 und einer von 1 : 218; sie finden dann allerdings auch Schwankungen, die aber unregelmäßig sind. Nun fällt überhaupt nur die erste ihrer Verdünnungen (1 : 10) in das von mir bearbeitete Gebiet hinein.

Über das, was eintritt, wenn man so stark verdünnt, wie es die genannten beiden Autoren tun (1 : 62 und 1 : 218); habe ich gar keine Versuche angestellt. Daß aber diese beiden letzteren Verdünnungen keinen Unterschied gegeneinander anzeigen, würde sich durchaus mit meinen Beobachtungen vertragen. Heubner und Rosenberg benutzen ferner ein Verdünnungsmittel (kohlensaures Natron), über welches ich ebenfalls keine Versuche angestellt habe. Man weiß daher nicht, in welcher Lage bei ihren Versuchen das Maximum der Gasbindung liegen würde, d. h. man weiß nicht, ob sie sich auf der Kurve noch diesseits, oder, was wahrscheinlicher, auch mit ihrer stärksten Konzentration (1 : 10) bereits erheblich jenseits des Maximums befinden. Zur Beurteilung dieser Frage kommt nämlich nach dem oben Gesagten noch sehr in Betracht, daß Heubner und Rosenberg natürliches, d. h. sehr kohlensäurereiches Blut und ein kohlensäurehaltiges, hämolysierendes und alkalisches Verdünnungsmittel anwenden. Ist aber die Wirkung der Verdünnung auf die Gasbindung infolge der angewandten Versuchsbedingungen an sich schon sehr klein, und hat man dann nicht einmal das Maximum dieses Effektes getroffen, so ist klar, daß die Abnahme dieses Effektes durch noch stärkere Verdünnung, welche Heubner und Rosenberg beobachten wollen, erst recht nicht wahrnehmbar sein wird.

Über die Genauigkeit der spektrophotometrischen Messungen auf diesem Gebiete sind gerade aus dem Tübinger Institut erhebliche Zweifel in den letzten Jahren geäußert worden. Ich will aber gar nicht anzweifeln, ob die von Heubner und Rosenberg angebrachten Verbesserungen nun tatsächlich ausreichend sind. Denn es können ihre Beobachtungen innerhalb ihrer eigenen Grenzen ganz richtig sein, nämlich es kann ganz richtig sein, daß, wenn man die Versuche so ausführt, wie es die beiden Autoren getan haben, daß man dann keinen optischen Effekt beobachten kann. Aber dies Ergebnis ist nach meinen Beobachtungen durchaus verständlich, es läßt sich also zum mindesten nicht gegen dieselben deuten. Den Schlüssen aus diesen optischen Beobachtungen von Heubner und Rosenberg haften daher so viele Momente der Unsicherheit an, daß ihnen gar keine Beweiskraft zukommt.

Über induzierte molekulare Asymmetrie bei ungesättigten Verbindungen.

Von

Emil Erlenmeyer und G. Hilgendorff.

(Mitteilung aus der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Dahlem.)

(Eingegangen am 14. Juli 1912.)

In unserer vor Jahresfrist erschienenen Abhandlung: „Zur Frage nach der Existenzfähigkeit molekular asymmetrischer Storax-Zimtsäuren"[1]) habe ich wie folgt zu dieser Frage Stellung genommen:

„Da es seit Begründung der Stereochemie noch nicht gelungen ist, ungesättigte Verbindungen in optisch aktivem Zustand zu gewinnen, so war ich mir vor der Inangriffnahme der nachstehend mitgeteilten Versuche darüber klar, daß, wenn ungesättigte Verbindungen überhaupt optisch aktiv auftreten können, ihre Beständigkeit jedenfalls außerordentlich gering sein müsse, so daß sie bereits durch einen geringen Anstoß racemisiert würden. Danach konnte es nur unter besonderen Kautelen gelingen, ungesättigte Verbindungen in optisch aktivem Zustand zu konservieren."

In meiner Abhandlung: „Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten"[2]) habe ich die Vorstellungen mitgeteilt, die nicht nur die Existenz labiler und molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle zulassen, sondern auch eine äußerst leicht erfolgende Racemisierung durch Übergang von d- in l-Modifikation voraussehen lassen, weshalb man wohl nie asymmetrische Zimtsäure frei von der Racemverbindung erwarten dürfe, sich vielmehr mit geringen Rudimenten der aktiven Modifikation neben vorwiegender Racemform begnügen müsse.

Das von uns damals mitgeteilte Beobachtungsmaterial sprach sehr viel mehr zugunsten dieser Auffassung als dagegen.

Ein ganz besonderes Interesse verdienen die Resultate, die wir bei der Regenerierung der Storaxzimtsäure aus d- bzw. l-Phenylbrommilchsäure erhielten.

---

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 1911.
[2]) Ebenda S. 149.

Beim Zusammenbringen einer alkoholischen Lösung aktiver Phenylbrommilchsäure mit Zink findet unter starker Temperaturerhöhung eine heftige, kurz anhaltende Reaktion statt.

Die Aufarbeitung des Reaktionsgemisches geschah in der Weise, daß man die alkoholische Lösung von dem unverbrauchten Zink ab in Wasser goß. Dabei scheidet sich ein weißes amorphes Zinksalz ab, das nach dem Auswaschen bis zur Entfernung des Bromzinks halogenfrei war und nach dem Trocknen die für wasserfreies zimtsaures Zink berechnete Zinkmenge enthielt.

0,1154 g gaben 0,0260 ZnO, 0,1634 g gaben 0,0366 ZnO, 0,2216 gaben 0,0516 ZnO.

Ber. für $(C_9H_7O_2)_2Zn$:	Gef.:		
Zn 18,1	18,1	18,0	18,7

Diese Analysenwerte und der Umstand, daß die aus den jeweils gewonnenen Zinksalzen abgeschiedenen Säuren aus Äther in der typischen Form der Storaxzimtsäure krystallisierten, legten die Annahme nahe, daß die Zimtsäure bereits in der alkoholischen Reaktionsflüssigkeit als Zinksalz vorhanden ist. Trotzdem muß aber bei der Abscheidung des zimtsauren Zinks durch Wasser eine Veränderung irgendeiner Art stattgefunden haben, da das abgeschiedene Zinksalz nicht mehr in Alkohol löslich ist.

Aus dem wässerigen Filtrat des zimtsauren Zinks wird nach dem Ansäuern durch Ausäthern die nebenher entstandene aktive Phenylmilchsäure erhalten.

Die überaus große Anzahl von Versuchen ergab übereinstimmend, daß bei der Reaktion aus zwei Molekülen Phenylbrommilchsäure ein Molekül Zimtsäure und ein Molekül aktive Phenylmilchsäure entsprechend der Gleichung:

$$2\,C_6H_5.CH(OH).CHBr.COOH + 2\,H_2 =$$
$$C_6H_5.CH:CH.COOH +$$
$$C_6H_5.CH(OH).CH_2.COOH + 2\,HBr + H_2O$$

entsteht.

Nach diesem Reaktionsverlauf hätte man erwarten sollen, daß die alkoholische Lösung nach der Reduktion, bei der die Hälfte der aktiven Phenylbrommilchsäure in die bisher als inaktiv betrachtete Storaxzimtsäure übergeht, mindestens die Hälfte ihrer ursprünglichen Aktivität einbüßen würde.

Die Versuche haben aber gelehrt, daß die alkoholische Lösung nach der Reduktion nicht nur nicht schwächer dreht als die angewandte Phenylbrommilchsäurelösung, sondern meist gleich stark, in vielen Fällen sogar stärker dreht.

Da das durch Wasser aus der Reaktionsflüssigkeit abgeschiedene zimtsaure Zink sich nicht mehr in Alkohol löste und

deshalb nicht auf Aktivität geprüft werden konnte, stellten wir aus ihm die freie Zimtsäure her, deren ätherische Lösungen zwar jedesmal geringe Aktivität von der gleichen Richtung, wie die angewandte Phenylbrommilchsäure und die nebenher entstandene Phenylmilchsäure zeigte, die aber bei weitem nicht ausreichte, um den starken Abfall der Aktivität der reduzierten Lösung bei ihrer Verarbeitung verständlich zu machen. Zudem waren noch besondere mühsame Untersuchungen notwendig, um festzustellen, inwieweit die gefundenen Drehwerte der Zimtsäurelösungen dieser selbst oder geringen Mengen beigemengter, durch die Analyse nicht bemerkbarer aktiver Phenylmilchsäure zuzuschreiben sind, über die wir in der ausführlichen Abhandlung berichten werden.

Am ungezwungensten läßt sich die erhebliche Verminderung der Aktivität der Reduktionsflüssigkeit bei der Verarbeitung durch die Annahme erklären, daß sich die durch die Reduktion neben aktiver Phenylmilchsäure gebildete Zimtsäure in der Reduktionsflüssigkeit, induziert durch die Konfiguration der aktiven Phenylmilchsäure, in einer molekular asymmetrischen Form erhalten kann, die bei der Aufarbeitung und Trennung von der aktiven Phenylmilchsäure, zum weitaus größten Teil ihrer Labilität entsprechend, unter großem Verlust an Aktivität in die molekular symmetrische, d. i. racemische, Form übergeht.

Zur experimentellen Prüfung dieser Annahme auf ihre Richtigkeit mußte versucht werden, ob es nicht möglich sei, durch Herstellung des Zinksalzes eines Gemisches von inaktiver Storaxzimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure gleichfalls zu einer alkoholischen Zinksalzlösung zu gelangen, die ein stärkeres Drehungsvermögen aufweist, als es der zugesetzten aktiven Phenylmilchsäure entspricht.

Darstellung und Verhalten des mit Hilfe von Zinkoxyd aus einem molekularen Gemisch von inaktiver Storaxzimtsäure und Phenylmilchsäure in alkalischer Lösung dargestellten Zinksalzes.

4,98 g d-Phenylmilchsäure von $[\alpha]_D = +20{,}4^0$ (der höchste in Alkohol beobachtete Drehwert für d-Phenylmilchsäure beträgt $[\alpha]_D = +24{,}2^0$) wurde zusammen mit einem Molekulargewicht inaktiver Storaxzimtsäure in absolutem Alkohol gelöst. Die Lösung, deren Volumen 57 ccm betrug, im 1 dm-Rohr untersucht ergab $\alpha = +1{,}78^0$.

In alkoholischer Lösung allein findet demnach eine Beeinflussung der Zimtsäure nicht statt, da die Drehung von + 1,78° der Aktivität der angewandten aktiven Phenylmilchsäure entspricht.

Zur Herstellung einer Lösung, die der nach der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure erhaltenen entspricht, wurden 56 ccm der obigen Mischung mit 6 g ZnO und 3,5 g $ZnBr_2$ versetzt und sodann eine Stunde auf dem Wasserbade erhitzt. Nach Ersatz des verdampften Alkohols wurde filtriert und die Lösung im 1 dm-Rohr polarisiert.

Vier Ablesungen gaben unter Schwankungen von 0,01 bis 0,02° im Mittel 3,88°.

Danach hat sich also tatsächlich die Aktivität der ursprünglichen Mischung nach dem Erhitzen mit Zinkoxyd und Bromzink mehr als verdoppelt.

Da die bei der Reduktion der Phenylbrommilchsäuren gewonnenen Lösungen die nämlichen Bestandteile in größerer Konzentration enthalten, wurden 50 ccm dieser Lösung zuerst auf dem Wasserbade eingedampft, sodann mit Alkohol auf ein Volumen von 32 ccm gebracht, eine Konzentration, die ungefähr der der Reduktionsflüssigkeiten entspricht.

Die so erhaltene konzentriertere Lösung drehte im 1 dm-Rohr

$$\alpha = + 6{,}85^\circ.$$

Man sieht daraus, daß es gelingt, durch Komposition aus aktiver Phenylmilchsäure, inaktiver Storaxzimtsäure, Zinkoxyd und Bromzink in Alkohol gleichfalls Lösungen zu erhalten, die sehr viel höher drehen, als es der zugesetzten aktiven Phenylmilchsäure entspricht.

Die Vorstellung, daß die gewählte Komposition von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure ihre ungewöhnliche Steigerung an Aktivität einer dem Zimtsäuremolekül durch die aktive Phenylmilchsäure induzierten molekularen Asymmetrie verdankt, gewinnt zwar durch diesen Versuch sehr an Wahrscheinlichkeit, bedurfte jedoch noch einer weiteren überzeugenden experimentellen Bestätigung.

Darstellung von linksdrehendem Zimtsäuredibromid aus dem Zinksalz der Mischung von inaktiver Zimtsäure und rechtsdrehender Phenylmilchsäure.

Ist es richtig, daß die Erhöhung des Drehungsvermögens des Zinksalzes der Mischung von inaktiver Storaxzimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure durch die Induktion molekularer Asymmetrie von der aktiven Phenylmilchsäure auf die angewandte ursprünglich inaktive Zimtsäure bedingt ist, so hätte die Annahme einer solchen Induktion als bewiesen zu gelten, wenn es gelänge, durch Addition der berechneten Menge Brom

an das Zinksalz des Gemisches Zimtsäuredibromid zu erzeugen, das sich nach der Trennung von der Phenylmilchsäure als optisch aktiv erweist.

Zu diesem Zwecke wurde die bei dem vorigen Versuch erhaltene $+ 6{,}85^0$ drehende Lösung der Zinksalze auf dem Wasserbad vom Alkohol befreit. Der zurückbleibende klebrige, jedoch farblose Rückstand löste sich bis auf einen minimalen pulverigen Rest in warmem Chloroform.

Nach dem Erkalten wurden 4,2 g Brom (berechnet für die in der Lösung enthaltenen 3,9 g Zimtsäure) in Chloroform gelöst allmählich zugesetzt. Bereits nach 2 Stunden war die Lösung wasserhell. Nach dem Verdunsten des Chloroforms bei gewöhnlicher Temperatur hinterblieb ein gallertartiger Rückstand, der zur Abscheidung der aktiven Phenylmilchsäure und des gebildeten Zimtsäuredibromids nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure mit Äther erschöpft wurde.

Zur Trennung der aktiven Phenylmilchsäure von dem entstandenen Zimtsäuredibromid wurde die beim Verdunsten des Äthers hinterbleibende Krystallmasse zerkleinert und so oft mit kaltem Wasser auf der Schüttelmaschine ausgeschüttelt, bis das Schüttelwasser ausgeäthert und polarisiert keine Aktivität mehr erkennen ließ und daher frei von aktiver, in Wasser löslicher Phenylmilchsäure war. Um diesen Punkt zu erreichen, mußte 5 mal ausgeschüttelt werden.

Die aus dem ersten Schüttelwasser mit Äther ausgezogene aktive Phenylmilchsäure drehte in 20 ccm gelöst im 2 dm-Rohr: $\alpha = + 5{,}78^0$ (höchste beobachtete Drehung von Phenylmilchsäure in Äther: $[\alpha]_D = 57{,}3^0$); sie schmolz nach dem Verdunsten des Äthers und nach dem Waschen der mit etwas Bromstyrol behafteten Krystalle mit wenig Chloroform bei 117°, dem Schmelzpunkt der aktiven Phenylmilchsäure.

Die aus dem zweiten Schüttelwasser extrahierte Phenylmilchsäure drehte im 2 dm-Rohr: $\alpha = + 4{,}26^0$. Volumen 20 ccm.

Die aus dem dritten im 2 dm-Rohr: $\alpha = 0{,}48^0$. Volumen 24 ccm.

Die ätherische Lösung der vierten Ausschüttelung drehte im 2 dm-Rohr $+ 0{,}02$.

Das ätherische Extrakt aus dem 5. Schüttelversuch endlich war inaktiv.

Die beim Schütteln ungelöst gebliebene Substanz zeigte nach dem Absaugen die für Zimtsäuredibromid charakteristischen Reaktionen.

Die ätherische Lösung zeigte im 2 dm-Rohr die außerordentlich starke Linksdrehung $\alpha = - 2{,}20^0$.

Nach dem Verdunsten des Äthers wurde der über 5 g wiegende Rückstand in Chloroform gelöst. Beim Erkalten schieden sich wunderschöne, einheitliche, derbe Storaxdibromidkrystalle ab, die zum großen Teil hemiedrische Flächen erkennen ließen. Ihr Schmelzpunkt lag wie bei anderen Dibromidpräparaten bei 204°.

Eine Brombestimmung gab die folgenden Werte:

0,1104 g gaben 0,1350 g AgBr.

Ber. für $C_9H_8O_2Br_2$:	Gef.:
Br 51,94	52,04

Wie wir fanden, läßt sich das Zimtsäuredibromid bequem in absolut alkoholischer Lösung mit $^n/_{10}$-Natronlauge und Phenolphthalein titrieren. 0,3164 g des aktiven Dibromids gebrauchten 10,35 ccm statt 10,28 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge, der für Dibromid berechneten Menge.

Von den aus Chloroform umkrystallisierten Dibromidkrystallen, deren Mutterlauge, wie bereits früher bei aktivem Dibromid anderer Herkunft gefunden wurde, die gleiche Drehung wie die abgeschiedenen Krystalle ergab, wurden 0,5 g in Äther gelöst und die Drehung im 1 dm-Rohr bestimmt: $\alpha = -0,27^{\circ}$ bei einem Volumen von 10 ccm. Daraus berechnet sich $[\alpha]_D = -5,4^{\circ}$.

Von der angewandten Storaxzimtsäure wird also nach dem beschriebenen Verfahren nur ein Bruchteil, durch die aktive Phenylmilchsäure induziert, in die molekulare asymmetrische Form gebracht und in dieser durch die Bromaddition festgelegt.

Darstellung von d-Zimtsäuredibromid durch Bromaddition an das Zinksalz der Mischung von l-Phenylmilchsäure und inaktiver Storaxzimtsäure.

Nach dem überaus interessanten Resultat des ersten Versuches war zu erwarten, daß man bei Anwendung des gleichen Verfahrens auf das Zinksalz einer Mischung von l-Phenylmilchsäure und inaktiver Storaxzimtsäure am Schluß d-Zimtsäuredibromid erhalten würde.

2,3 g l-Phenylmilchsäure ($[\alpha]_D$ in Alkohol $= -21,6^{\circ}$) wurden mit 2 g Storaxzimtsäure in Alkohol gelöst. Das Volumen betrug 28 ccm. Die auf l-Phenylmilchsäure berechnete Drehung betrug $\alpha = -1,76^{\circ}$.

Wie beim ersten Versuch wurde die Lösung mit 3 g Zinkoxyd und 1,6 g Bromzink 1 Stunde auf dem Wasserbad gekocht, nach Ersetzung des verdampften Alkohols und nach der Filtration drehte die Lösung nunmehr:

$$\alpha = -3,84^{\circ},$$

also doppelt so stark wie vorher. Nach dem vollständigen Verdampfen des Alkohols wurde der Rückstand in Chloroform gelöst mit 2,2 g Brom, in wenig Chloroform gelöst, bromiert.

Die Verarbeitung des Bromierungsproduktes geschah genau wie bei dem Versuche mit d-Phenylmilchsäure.

Das erste und zweite Schüttelwasser zusammen, mit Äther extrahiert, drehte:

$$\alpha = -3,15^{\circ}; \text{ Volumen 35 ccm.}$$

Das dritte Schüttelwasser extrahiert drehte nunmehr:

$$\alpha = -0,03^{\circ}; \text{ Volumen 17,5 ccm.}$$

Das vierte Schüttelwasser mit Äther extrahiert gab keine Drehung mehr. Die Drehungen wurden im 2 dm-Rohr ausgeführt.

Die beim Schütteln bis zur Inaktivität des Schüttelwassers ungelöst gebliebene Substanz im Gewichte von 2,4 g zeigte das Verhalten des Zimtsäuredibromids.

Die 15 ccm betragende Lösung in Äther drehte im 2 dm-Rohr:

$$\alpha = +1,25^{\circ}.$$

Daraus berechnet sich: $[\alpha]_D = +3,9^{\circ}$.

Nach der Krystallisation aus Chloroform wurden prächtige, vielfach hemiedrisch ausgebildete Krystalle des Dibromids erhalten, die bei 204° schmolzen.

Die beiden soeben beschriebenen Versuche, sowie zwei in derselben Weise und mit dem gleichen Resultat mit einer aus d-Phenylbrommilchsäure und mit einer aus l-Phenylbrommilchsäure erhaltenen d- resp. l-drehenden Reduktionsflüssigkeit ausgeführten Versuche beweisen übereinstimmend, daß die aktiven Phenylmilchsäuren imstande sind, unter den hier gewählten Versuchsbedingungen das leicht veränderliche Zimtsäuremolekül durch Induktion in seiner d- bzw. l-molekular asymmetrischen Form festzuhalten, die sich durch eine beträchtliche Erhöhung des Drehungsvermögens des Gemisches bemerkbar macht, bei darauffolgender Trennung fast völlig verschwindet, deren Vorhandensein im Gemische sich aber durch Bromaddition an das gemischte Zinksalz und Abscheidung eines Dibromids, das die entgegengesetzte Aktivität besitzt, als die angewandte Phenylmilchsäure bzw. Phenylbrommilchsäure, mit Sicherheit nachweisen läßt.

Es könnte auf den ersten Blick sonderbar erscheinen, daß bei Verwendung von d-Phenylmilchsäure l-Dibromid, von l-Phenylmilchsäure dagegen d-Dibromid erhalten wird; da ich aber früher[1]) nachgewiesen habe, daß d-Phenylmilchsäure und d-Phenylbrommilchsäure mit l-Dibromid in die gleiche Konfigurationsreihe gehören, so konnte man das Auftreten dieses Gegensatzes in der Drehungsrichtung von angewandter Phenylmilchsäure resp. Phenylbrommilchsäure und erhaltenem Dibromid, das die Beweiskraft des Versuches sehr erhöht, voraussagen.

Wenn diese Versuche auch die partielle Induktion molekularer Asymmetrie bei den bisher geometrisch aufgefaßten Zimtsäuren außer Frage stellen, so konnten wir doch bisher

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, I, 788, 1906.

noch nicht ermitteln, woher es kommt, daß bei den beschriebenen Versuchen Dibromide von verschiedenem Drehwert gewonnen wurden. Es frägt sich, ob die Induktion allein von der Bildung eines gemischten Zinksalzes abhängt oder ob sie vielleicht durch längeres Erwärmen, wie bei dem ersten Versuch, gesteigert wird.

Die mitgeteilten Versuche stellen eine durchaus neue stereochemische Tatsache dar.

Abgesehen von der beobachteten, die molekulare Asymmetrie induzierenden Wirkung einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom auf eine inaktive ungesättigte Säure, haben wir hier eine völlig neue Methode, um bestimmte Substanzen aktiv zu gewinnen, die nichts mit den Pasteurschen Methoden gemein hat. Ihre Verallgemeinerung auf andere ungesättigte Verbindungen, auch solche mit den $C=O$- und $C=N$-Gruppen, behalten wir uns vor.

Ferner deuten die Versuche auf die Möglichkeit hin, racemische Säuren mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen durch Bildung gemischter Salze mit einer aktiven Säure und einer zweisäurigen Base zu trennen.

Endlich aber erscheinen die Versuche deshalb von Wichtigkeit, weil sie bei weiterer Verfolgung vielleicht Aufschluß geben können über die Entstehung der optisch aktiven Körper mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen in der Pflanze. Jedenfalls stellen sie einen ganz neuen, unerwarteten Fall einer asymmetrischen Synthese vor.

Wir bitten die Herren Fachgenossen, uns die experimentelle Beantwortung der sich aus den mitgeteilten Versuchen ergebenden Fragen überlassen zu wollen.

Eine ausführliche Abhandlung wird bald folgen.

Über die physiologische Einwirkung einiger Neutralsalze von Alkali- und Alkalierdmetallen auf grüne Pflanzen.

Von

Th. Bokorny (München).

(Eingegangen am 10. Juli 1912.)

Sehr auffallende Einwirkungen kann man bei Spirogyren beobachten, wenn dieselben bei Gegenwart von Calciumnitrat ins Dunkle gestellt werden. Die Konzentration muß natürlich richtig gewählt werden (ca. 0,1 $^0/_0$).

Es gibt wohl keine Pflanze, die darauf so rasch reagiert wie Spirogyra. Es handelt sich hierbei um sehr rasches Wachstum der Zellen und schnellen Stärkeverbrauch.

Ob es auch noch andere Salze gibt, die in gleicher Weise auf Spirogyren wirken, soll untersucht werden.

Desgleichen soll hier nach wachstumsbeschleunigenden Neutralsalzen der Alkali- und Alkalierdmetallgruppe überhaupt gesucht werden; die Untersuchungsobjekte hierfür sind Keimlinge von rasch keimenden Pflanzen.

Es gibt wenige Erscheinungen, die so wenig geklärt sind wie die äußerst merkwürdige Beschleunigung, die Wachstums- und Bewegungsvorgänge an Pflanzen (und Tieren) durch die Einwirkung gewisser chemischer Stoffe bei geeigneter Verdünnung derselben erfahren.

Bei Blütenpflanzen hat man das manchmal beobachtet. Aber auch für Hefe und Bakterien ist es nicht ganz unbekannt.

Edwin Brown Fred[1]) hat z. B. für die Bakterien- und Hefenvermehrung folgenden Einfluß herausgefunden (bei 4 stündiger Einwirkung des Reizmittels auf die in Bouillon befindlichen Bakterien):

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. 21.

Anzahl der Bakterien nach 4stündiger Einwirkung der Bouillon und des Reizmittels.	Anzahl der Bakterien beim Kontrollversuch nach 4 Stunden in Bouillon ohne Reizmittel.
Kupfersulfat 1:1000000, 7400 Keime von B. pyocyaneus,	5232 Keime von B. pyocyaneus.
Kupfersulfat 1:1000000, 8705 Keime von B. pyocyaneus,	
Kupfersulfat 1:10000000, 7169 Keime von B. pyocyaneus,	
Kupfersulfat 1:100000, 2665 Keime von B. fluorescens,	1410 Keime von B. fluorescens.
Kupfersulfat 1:1000000, 3097 Keime von B. fluorescens,	
Kupfersulfat 1:10000000, 2591 Keime von B. fluorescens.	

Schwefelkohlenstoff bewirkt nach demselben Autor bei Verdünnung 1:100000 eine beträchtliche Steigerung der Vermehrungsziffer an dem vorhin genannten Bacillus (pyocyaneus).

Kaliumdichromat bei 1:1000000 ebenso.

Äther bei 1:3000 ebenso.

Weinhefenvermehrung wird durch Schwefelkohlenstoff 1:100000 stark beschleunigt; Bierhefe soll durch Kupfervitriol 1:100000 günstig beeinflußt werden.

Äther, in geeigneter Menge zu Mischkulturen von Azotobacter im Boden zugesetzt, verursachte eine deutlich gesteigerte Stickstoffbindung.

Äther und Schwefelkohlenstoff verursachten in Reinkulturen von Azotobacter eine Erhöhung der Stickstoffbindung; jedoch ist dieselbe bei weitem schwächer als in Mischkulturen.

Das Wachstum der denitrifizierenden Bakterien wird durch Antiseptica verlangsamt, nach Zugabe sehr kleiner Mengen wurde jedoch einmal in schwachem Grade die entgegengesetzte Wirkung benutzt.

Man muß sich also hüten vor Verallgemeinerungen; nicht immer und bei allen Organismen sind Gifte bei geeignet großer Verdünnung Förderungsmittel für Wachstum und Stoffwechsel.

In gewöhnlichem Boden wird die Nitrifikation durch Anwendung von Äther zuerst verzögert, später stark beschleunigt.

Indem manche Gifte auf die Bodenbakterien wirken, beeinflussen sie oft auch die auf dem Boden gebauten Blütenpflanzen günstig. Doch ist nach Brown Fred auch eine direkte Förderung der letzteren durch die Gifte manchesmal anzunehmen.

Hinsichtlich der Mikroorganismen kann ich ebenfalls einige Tatsachen anführen, die auf Reizwirkung chemischer Substanzen hinweisen.

So konnte ich bei Bierhefe nachweisen, daß eine viel stärkere Trockensubstanzvermehrung stattfindet, wenn der Gär- und Nährlösung etwas Rubidiumsalz zugefügt wird.

Rb-Versuch.		Kontrollversuch.	
Preßhefe von 30 % Tr.-S.	1,00 g	Preßhefe von 30 % Tr.-S.	1,00 g
Aqua dest. (+ Spur $CaCl_2$)	100,00 g	Aqua dest. (+ Spur $CaCl_2$)	100,00 g
PO_4KH_2	0,10 g	PO_4KH_2	0,10 g
$MgSO_4$	0,03 g	$MgSO_4$	0,03 g
Rubidiumsulfat . . .	**0,10** g	Rubidiumsulfat . . .	**0,00** g
Asparagin	0,20 g	Asparagin	0,20 g
Rohrzucker	10,00 g	Rohrzucker	10,00 g

Nach 3 Tagen war die Hefe abgesetzt. Nun wurde die Trockensubstanz bestimmt. Es ergab sich beim Rubidiumversuch **0,68 g**, beim Kontrollversuch **0,49 g**. Die günstige Einwirkung des Rubidiumsalzes ist unverkennbar.

Auf Spirogyren scheint Calciumnitrat einen wachstumsfördernden Einfluß zu äußern.

Spirogyren mit 0,1 % Calciumnitrat im Dunkeln: Fäden nach 3 Tagen turgescent und grün. Zellen stark gestreckt, Stärke großenteils verbraucht. Nach 4 Tagen Wachstum und Stärkeverbrauch weiter fortgeschritten. Die Zellen waren zum Teil völlig entstärkt und so gestreckt, daß die (nicht in gleichem Maße gewachsenen) Chlorophyllbänder gar keinen spiraligen Verlauf mehr hatten, sondern geradegestreckt waren; Kerne nun sehr gut sichtbar, ganz intakt. Nach 7 Tagen Fäden sehr gesund, Zellen dreimal so lang gestreckt als beim vorausgehenden Versuche. Nach 10 Tagen die Fäden ebenfalls noch durchaus gesund; die Stärke war meist völlig verbraucht, die Zellen waren bis fünfmal so lang geworden als ursprünglich, die Chlorophyllbänder geradegestreckt und auf dünne Streifen eingeschrumpft. (Eine in wenig Individuen anwesende dickere Spyrogyra war allerdings noch nicht so stark verändert.)

Aus dem Vergleich der Licht- (s. unten) und Dunkelversuche geht zunächst hervor, daß die Dunkelheit das Längenwachstum der Spirogyrenzellen beschleunigt; denn in dem Lichtversuche mit Calciumnitrat trat die Zellstreckung bei weitem nicht in dem Maße ein wie bei dem entsprechenden Dunkelversuche.

Doch vermag Dunkelheit allein binnen kürzerer Zeit fast nichts auszurichten, wie aus dem gleich nachher angegebenen Dunkelversuche ohne jeden Zusatz hervorgeht.

Zum Vergleich wurde Spirogyra ohne jeden Zusatz in einer Mischung von $^1/_2$ Brunnenwasser und $^1/_2$ destilliertem Wasser ins Dunkle gebracht. Nach 3 Tagen zeigte sich noch kein merklicher Stärkeverbrauch und kein erhebliches Zellwachstum.

Spirogyren in 0,1 % Calciumnitrat am Lichte: Nach 3 Tagen Fäden grün und turgescent; Zellen mit den Chlorophyllbändern etwas gestreckt, Stärke zum Teil verbraucht Nach 4 Tagen waren Wachstum und Stärkeverbrauch nicht fortgeschritten. Nach 10 Tagen Fäden noch lebend, Stärke meist noch ziemlich reichlich vorhanden, selten auf ein kleines Maß reduziert.

Man kann also sagen, daß weder Calciumnitrat für sich allein noch Dunkelheit allein die rasche Streckung und Entstärkung der Spirogyrazellen zu bewirken vermag, während beide zusammen eine überraschend schnelle Entstärkung und Verlängerung der Zellen zuwege bringen.

Es bietet sich kaum eine andere Erklärung, als daß Calciumnitrat einen starken Anreiz zum Wachstum der Zellen und Stärkeverbrauch liefert, dem aber das Licht entgegenwirkt, so daß die Wirkung des Salzes nicht zur Geltung kommt, wenn der Calciumnitratversuch am Lichte aufgestellt wird.

Nahe liegt ja auch der Gedanke, daß das Calciumnitrat eine ernährende Wirkung äußere und durch Eiweißbildung zum raschen Verbrauch des abgelagerten Kohlenhydrats „Stärke" führe. Zum Teil mag ja das mitwirken, wiewohl damit nicht die enorme Streckung der Zellen erklärt ist. Genügend ist diese Erklärung aber nicht, da sonst ja auch andere, Eiweißbildung bewirkende Salze dieselbe Wirkung haben müßten, z. B. Kaliumsalpeter. Das ist aber nach folgenden Versuchen nicht der Fall.

Es schien mir von großem Interesse, auch andere Nährsalze auf ihre Wirkung zu prüfen, wenn sie dem spyrogyrenhaltigen Wasser zugesetzt und die Algen ins Dunkle gebracht werden.

a) Spirogyren + 0,1 % Kaliumsalpeter, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen zeigten die Zellen zwar eine Verminderung des Stärkegehaltes und auch einige Streckung. Keine Zelle war aber ganz oder fast

ganz entstärkt, keine erreichte die Länge des Gesichtsfelddurchmessers bei 300 facher Vergrößerung, meistens waren die Zellen kaum halb so lang. Nach 10 Tagen Fäden gesund, Zellen gestreckt und entstärkt.

b) Spirogyren + 0,1 % Calciumsulfat, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen waren die Zellen meist stark gestreckt, die Entstärkung war aber bei weitem nicht so weit vorgeschritten wie bei Versuch k (mit 0,1 % Calciumnitrat). Nach 10 Tagen Zellen meist gesund, langgestreckt und entstärkt.

c) Spirogyren + 0,1 % Magnesiumnitrat, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Zellen stark gestreckt, Entstärkung aber nur selten sehr weit vorgeschritten. Nach 10 Tagen Fäden meist abgestorben; Zellen, wenn noch am Leben, langgestreckt und stärkefrei.

d) Spirogyren + 0,1 % Calciumnitrat + 0,05 % PO_4KH_2, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Zellen sehr lang, Entstärkung weit vorgeschritten. Nach 10 Tagen Fäden gesund, Zellen sehr lang gestreckt, stärkefrei.

e) Spirogyren + 0,1 % Calciumnitrat + 0,03 % PO_4KH_2 + 0,02 % $MgSO_4$, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Algenkultur sehr schön, Zellen langgestreckt, meist nahezu entstärkt. Nach 10 Tagen Kultur gesund, Zellen langgestreckt, ganz entstärkt.

f) Spirogyren + 0,1 % $Ca(NO_3)_2$ + 0,03 % PO_4NaH_2, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Zellen meist entstärkt, gestreckt, aber lang nicht in dem Grade wie bei e und k; Chlorophyllbänder häufig etwas in Unordnung. Nach 10 Tagen Kultur noch lebend, Zellen gestreckt, entstärkt.

g) Spirogyren + 0,1 % $Ca(NO_3)_2$ + 0,03 % PO_4KH_2 + 0,02 % $MgCl_2$, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Zellen langgestreckt, selten kürzer; zumeist fast ganz entstärkt. Nach 10 Tagen Zellen sehr lang gestreckt; Chlorophyllbänder schmal, fast gerade verlaufend, ohne Stärke.

h) Spirogyren + 0,1 % PO_4KH_2, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Längenwachstum der Zellen ziemlich, Entstärkung meist wenig eingetreten. Nach 10 Tagen Zellen entstärkt, langgestreckt, Chlorophyllbänder schmal, fast gerade.

i) Spirogyren + 0,1 % Bittersalz, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Zellen meist noch reichlich Stärke haltend; seltener langgestreckt und stärkearm. Nach 10 Tagen Fäden meist gesund. Zellen meist ganz entstärkt, Chlorophyllbänder schmal, fast gerade verlaufend, Zellen 1 bis $1^1/_2$ mal so lang als der Durchmesser des Gesichtsfeldes bei 300 facher Vergrößerung.

k) Spirogyren + 0,1 % Calciumsalpeter, ins Dunkle gestellt: Nach 3 Tagen Spirogyrenzellen ganz oder fast ganz entstärkt, die Zellen meist so lang oder länger als der Durchmesser des Gesichtsfeldes bei Anwendung 300 facher Vergrößerung. Nach 10 Tagen viele Zellen abgestorben, Infusorien in großer Zahl vorhanden.

Nach 10 Tagen wurden die Versuche a bis k abgebrochen, da die Frage schon genügend geklärt zu sein schien.

Hiernach kann man wohl sagen, daß kein Salz die Erscheinungen von Zellstreckung und Stärkeverbrauch so vollkommen bewirkt wie Calciumnitrat. Kaliumsalpeter steht dahinter weit zurück, sowohl bezüglich der Zellstreckung wie auch der Entstärkung; Magnesiumnitrat bewirkt rasche Streckung der Zellen, aber nicht ebenso rasche Entstärkung. Also ist es nicht die NO_3-Gruppe des Calciumsalpeters für sich allein, die jene Erscheinungen hervorruft. Daß auch das Ca nicht allein daran schuld ist, geht aus der langsameren Entstärkung bei dem Calciumsulfatversuch hervor.

Im übrigen bemerkt man, daß nach 10 Tagen bei sämtlichen Versuchen a bis k Entstärkung eingetreten ist (Wirkung der Dunkelheit).

Zum Vergleich wurden die Keimlinge einiger Pflanzenarten, nachdem sie zuerst in Brunnenwasser 10 Tage lang gekeimt hatten, teilweise in 0,1 % ige Calciumnitratlösung versetzt und ins Dunkle gestellt; der andere Teil der Keimlinge wurde in Brunnenwasser und am Lichte belassen.

Nachdem Verfasser schon bei Algen den rapiden Einfluß des Calciumnitrats auf das Wachstum der Zellen beobachtet hat, läßt sich vielleicht hier ein analoges Resultat erwarten, nur daß bei Keimlingen die Streckung und Teilung der einzelnen Zellen nicht direkt zu beachten ist und daß es hier nur an den Vegetationspunkten teilungsfähige Zellen gibt.

Nach 3 Tagen schienen mir Feuerbohnen, Linsen, Erbsen, Gerste, Cosmea bipinnata ziemlich im Wachstum voran zu sein gegen den Kontrollversuch; dagegen zeigte sich bei den dunkel gestellten Pflanzen allmählich ein Anfang zum Erbleichen.

Nach 17 Tagen waren die Calciumnitrat-Feuerbohnen beträchtlich voraus in der Stengelentwicklung, dabei vollkommen gesund, nur etwas bleich; Stengel bis 35 cm lang, Hauptwurzel bis 20 cm, reich verzweigt; beim Kontrollversuch am Licht Hauptwurzel bis 20 cm, Stengel bis 20 cm.

Bei der Erbse war der Stengel am calciumnitrathaltigen Dunkelversuch bis 25 cm, die Wurzel bis 10 cm reich verzweigt (am Kontrollversuch Stengel bis 10 cm, Wurzel 5 cm).

Bei Gerste war der Unterschied weniger zugunsten des Calciumnitrat-Dunkelversuches.

Wir sehen also auch hier, bei den Keimpflanzen von Bohnen, Linsen, Erbsen, eine beschleunigende Wirkung des Calciumnitrats auf die Pflanze.

Bei Keimlingen einiger Phanerogamen wurde gefunden, daß 0,1 bis 0,2 %ige Rubidiumsalze oft eine starke Wachstumsbegünstigung bewirken. Es soll dies hier vorgreifend erwähnt werden, weil eine nähere Erkenntnis der Sache von mir an Spirogyren versucht wurde.

Worauf beruht die Begünstigung des Keimlingswachstums durch Rubidiumsalze?

Bei Hefe wurde von dem Verfasser festgestellt, daß die Trockensubstanzvermehrung eine größere ist, wenn Rubidiumsalz in Nähr- und Gärlösungen anwesend ist, als wenn dasselbe fehlt.

Das legt den Gedanken nahe, daß die Assimilation der dargebotenen Nährstoffe gesteigert wird.

In den bei den Hefeversuchen verwendeten Lösungen war Rohrzucker als Kohlenstoffquelle, Asparagin als Stickstoffquelle geboten.

Ähnliche Stoffe sind auch in Keimlingen da, sie strömen von den Eiweiß- und Kohlenhydratspeichern des Samens zu den Vegetationspunkten des Keimlings und ermöglichen dort die Bildung neuer Zellen durch Umsatz von Eiweiß und Kohlenhydrat.

Ich versuchte nun denselben Vorgang, d. h. die Bildung von Eiweiß und Kohlenhydrat, bei Gegenwart von Rubidiumsalz in teilungsfähigen Zellen von Spirogyra herbeizuführen und mit dem entsprechenden Vorgang in Kontrollalgen (ohne Rubidiumsalzzusatz) zu vergleichen.

Spirogyren (im Laboratorium überwintert, stärkereich) mit 0,2 % Rubidiumsulfat am hellen Tageslicht: Nach 2 Tagen abgestorben, gebleicht. Hier scheint zu starkes Licht zusammen mit dem Mangel an Calciumnitrat den Tod herbeigeführt zu haben.

Spirogyren mit 0,2 % Rubidiumsulfat + 0,1 % Calciumnitrat am Lichte: Nach 3 Tagen sind die Fäden zum Teil noch turgescent und grün; Zellen aber doch teilweise geschädigt, wie aus der Verschiebung der Chloropyllbänder hervorging; Stärke nur zum kleinen Teil verbraucht, Zellen nur manchmal etwas langgestreckt. Nach 10 Tagen Zellen meist abgestorben. Stärke meist unverbraucht, auch in den noch lebenden Zellen; selten in letzteren nur noch kleine Stärkereste.

Spirogyren mit 0,2 % Rubidiumsulfat im Dunkeln: Nach 3 Tagen nur turgescent und grün. Zellen fast nicht gestreckt, Stärkekörner nicht verbraucht. Nach 4 Tagen noch derselbe Befund; nach 7 Tagen ebenso.

Spirogyren mit 0,2 % Rubidiumsulfat + 0,1 % Calciumnitrat im Dunkeln: Fäden nach 3 Tagen noch turgescent und grün. Zellen wenig gestreckt, Stärke fast nicht verbraucht. Nach 4 Tagen Wachstum und Stärkeverbrauch nicht fortgeschritten. Nach 7 Tagen Stärkeverbrauch und Wachstum etwas weiter, aber meist noch recht viel Stärke; nach 10 Tagen ebenso.

Die Versuche sprechen eher gegen als für eine Beschleunigung von Assimilation und Stoffwechsel bei Spirogyren durch Rubidiumsulfateinwirkung.

Die Stärke verschwand in keinem der Versuche, auch nicht bei dem Dunkelversuch mit 0,1 % Calciumnitratzusatz, wo doch sonst die Stärke binnen 2 bis 3 Tagen völlig zu verschwinden pflegt.

Ja, es erscheint fast so, als ob das Rudidiumsulfat der Entstärkung von Spirogyrenzellen, also dem Verbrauch von Stärke in diesen, entgegen wirkte. Damit würde auch die von O. Loew früher beobachtete Bildung großer Stärkeansammlungen in Spirogyrenzellen bei Gegenwart von Rubidiumsalzen übereinstimmen.

Auch das Wachstum der Spirogyrenzellen wird durch Rubidiumsulfat nicht gefördert.

Demnach liefern die Beobachtungen an Spirogyren bis jetzt keinen Anhalt zur Erklärung der Wachstumsbeschleunigung bei Keimlingen.

Man hat schon daran gedacht, dem Rubidium eine ähnliche Rolle wie dem Kalium zuzuschreiben, ja dasselbe geradezu als Ersatz für Kalium anzusehen.

Daß das Kalium durch das ihm so nahestehende Rubidium bei Phanerogamen nicht ersetzt werden könne, ist nachgewiesen.

O. Loew hat das an Buchweizen festgestellt (Bull. agr. coll. Tokyo, Imp. Univ., Vol. V). Auch Birner und Lucanus sind zu demselben Schlusse gekommen. Immerhin konnte O. Loew einen großen Unterschied zwischen der Wirkung von Rubidiumnitrat und Rubidiumchlorid

konstatieren; das Rubidiumchlorid wirkte zunächst günstiger als ersteres, wenn auch beide schließlich eine schädliche Wirkung äußerten, sobald sie als teilweiser oder ganzer Ersatz für Kalium gebraucht wurden. Mit Nitrat ergaben sich pathologische Stärkeanschoppungen, eine Verdickung und Torsion des Stengels, Sistierung des Längenwachstums, Einrollen und Fleischigwerden der Blätter, schließlich erfolgte der Tod, bevor eine Blüte entwickelt war. Wurde gleichzeitig ein Chlorid (Salmiak) zugesetzt oder Rubidium nicht als Nitrat, sondern als Chlorid verwendet, so streckten sich die Pflanzen und gelangten nach Erreichung einer weit bedeutenderen Höhe bis zur Blütenbildung, was deutlich für den Einfluß von Chloriden auf den Stärketransport spricht. Nach der Blütenbildung aber traten Hemmungserscheinungen ein. Weiter gelangten Pflanzen, denen Kalium und Rubidium zugleich gegeben wurden, indem die Hälfte des in der Kontrollösung verwendeten Chlorkaliums durch Chlorrubidium ersetzt war; doch schließlich traten auch hier allmählich pathologische Erscheinungen ein.

Daß Algen in einer Nährlösung sich gar nicht entwickeln, wenn darin statt der Kaliumsalze Rubidium vorhanden ist, hat Molisch beobachtet.

Bei Bierhefe und Schimmelpilzen fand O. Loew, daß sich dieselben sogar noch besser entwickeln können, wenn bei organischer Ernährung durch Zucker Rubidium statt Kalium geboten wird. Werden aber weniger gute Kohlenstoffquellen verwendet, „so stößt man auf einen bedeutenden Unterschied zugunsten des Kaliums".

Nach Günther kann Botrytis cinerea Rubidiumsalze physiologisch verwenden, Rhizopus nigricans aber nicht. Bacterium coli kann nach O. Loew Kalium durch Rubidium vertreten lassen, Cladothrix odorifera aber nicht (selbst nicht bei Zuckerernährung).

Bei Kulturversuchen mit Gerste konstatierte O. Loew einen stimulierenden Einfluß des Rubidiums; das gleiche Resultat wurde mit Brassica chinensis, ferner mit Spinacia oleracea erhalten.

Die Frage des Ersatzes von Kalium durch Rubidium und Caesium, die bald in bejahendem, bald in verneinendem Sinne beantwortet wurde, scheint demnach nicht allgemein gültig beantwortet werden zu können; es gibt nach obigen Autoren Organismen, die den Ersatz zulassen, und solche, die es nicht können. Bei der Schwierigkeit, die Salze rein zu erhalten, kann immerhin ein leiser Zweifel an der Ersetzbarkeit des Kaliums doch nicht ganz unterdrückt werden.

Ich stellte folgende Versuche mit Hefe an:

In 1 g Preßhefe von 0,30 g Trockensubstanz wurde in a) gute Gär- und Nährlösung (mit 0,1 % Asparagin + 0,025 % Pepton als Stickstoffnahrung und 10 % Rohrzucker als Kohlenstoffnahrung) ohne Rubidiumzusatz, b) mit 0,1 % Rubidium-

sulfat unter Weglassung jeglichen Kaliumzusatzes verbracht. Nach dem Absetzen wurde die Trockensubstanz bestimmt.

Der rubidiumhaltige und kaliumfreie Versuch wies keine Trockensubstanzvermehrung auf, während in dem Kontrollversuch die Trockensubstanz auf das Doppelte vermehrt war.

Also ist auch bei Hefe das Kalium nicht durch Rubidium zu ersetzen.

Dagegen fand ich, daß Rubidium- sowohl als auch Caesiumsalz die Entwicklung und Trockensubstanzvermehrung der Hefe befördert.

Der Einfluß auf Keimlinge wurde von mir zunächst bei Rubidium studiert.

Bohnen-, Linsen-, Erbsen- und Kohlsamen wurden in 0,2 %iger Rubidiumsulfatlösung keimen gelassen; daneben wurde ein Kontrollversuch aufgestellt, bei dem die Samen in Brunnenwasser keimen gelassen wurden. Die Samen befanden sich in geräumigen, mit übergreifendem Glasdeckel versehenen Schalen, auf deren Boden Fließpapier war; dieses wurde mit 200 ccm der betreffenden Flüssigkeiten übergossen, so daß der Boden gut bedeckt war. Die Samen wurden darin ausgelegt. Ebenso wurde ein Versuch mit 0,5 % und mit 1 % Rubidiumsulfat aufgestellt.

In allen Fällen erfolgte die Keimung der Samen. Bald aber zeigte sich bei höherer Konzentration als 0,2 % Rubidiumsulfat eine Schädigung der Keimlinge. 1 % Rubidiumsulfat äußerte sehr bald eine schädliche Wirkung, die Wurzeln wuchsen nicht mehr in die Länge, sondern nur in die Dicke, offenbar waren die Vegetationsspitzen mit ihren Meristemen geschädigt worden. Im übrigen waren die Teile der Pflanzen gesund.

Auch in 0,5 % Rubidiumsulfat zeigte sich eine Schädigung der Keimlinge; die Pflanzen blieben hinter den Kontrollpflanzen zurück.

0,2 % Rubidiumsulfat hingegen erwies sich als äußerst förderlich. Die Keimpflanzen wuchsen hier weit rascher und schöner heran als in Brunnenwasser. Die Wurzeln erreichten durchschnittlich die doppelte bis dreifache Länge von denen der Kontrollpflanzen und verzweigten

sich äußerst reichlich. Auch die oberirdischen Teile waren üppiger. Die Messungen ergaben folgendes:

A. Samen von Phaseolus multiflorus (Feuerbohne), Erbse, Linse, Kohl (Blaukohl) wurden in 0,2%iger Rubidiumsulfatlösung keimen gelassen. Die Samen befanden sich in einer großen, flachen Glasschale mit übergreifendem Deckel auf Fließpapier, das mit 100 ccm jener Lösung begossen war; von jeder Sorte Samen wurden ca. 6 Stück angewendet. Nach einer Woche war die Wurzel bei Phaseolus bis 3 cm lang, meist ohne Verzweigung, nicht sehr kräftig; oberirdischer Teil noch nicht hervorgetreten. Bei der Erbse war die Wurzel bis 4 cm lang, der oberirdische Teil bis 2 cm lang. Die Linse wies eine bis 4 cm lange Wurzel auf und einen bis 2 cm langen oberirdischen Teil. Der Kohl zeigte eine Wurzellänge bis 1 cm (viele Wurzelhaare), einen oberirdischen grünen Teil bis 1 cm. Die Bohne wurde als Wasserkultur 3 Monate lang weitergezogen, entwickelte sich sehr kräftig.

B. Kontrollversuch mit Brunnenwasser: Nach 1 Woche Phaseoluswurzel bis 3 cm lang mit vielen Seitenwurzeln, sehr kräftig. Erbsenwurzel bis 3 cm lang, sehr kräftig; oberirdischer Teil bis 2 cm lang. Linsenwurzel bis 3 cm lang, oberirdischer Teil bis 2 cm. Kohlwurzel bis 1 cm lang mit vielen Wurzelhaaren, oberirdischer Teil bis 1 cm lang.

C. 1% Rubidiumsulfat: Nach 1 Woche Phaseoluswurzel bis $1^1/_2$ cm, oberirdischer Teil nicht entwickelt. Erbsenwurzel bis $^3/_4$ cm, oberirdischer Teil bis 1 cm. Linsenwurzel bis $1^1/_4$ cm, oberirdischer Teil bis 1 cm. Kohlwurzel bis $^1/_2$ cm, oberirdischer Teil bis $^3/_4$ cm.

D. 0,5% Rubidiumsulfat: Nach 1 Woche die Wurzel von Phaseolus bis 2 cm, sehr dick, Verzweigung beginnend. Die Wurzel der Erbse bis 2 cm, oberirdischer Teil bis 1 cm lang. Die Wurzel der Linse bis 2 cm lang, oberirdischer Teil bis $1^1/_2$ cm. Wurzel des Kohls bis $^1/_2$ cm, oberirdischer Teil bis $^3/_4$ cm.

Aus den angeführten Versuchen ergibt sich, daß Rubidiumsulfat schon von 0,5% die Entwicklung der Keimlinge hemmt, während 0,2% Rubidiumsulfat die Entwicklung merklich fördert, mit Ausnahme der Blaukohlkeimlinge, die etwas zurückblieben gegenüber den Kontrollpflanzen.

Eine weitere Beobachtung der Keimlinge mit 0,2% Rubidiumsulfat zeigte mir, daß die Beeinflussung wirklich eine sehr günstige war. Es war ein ganz auffallender Unterschied zwischen den Rubidiumkeimlingen und den Kontrollkeimlingen, so daß die schlechtest gekeimten Rubidiumkeimlinge immer noch den best gekeimten Kontrollkeimlingen weit überlegen waren.

Die Messungen ergaben nach 3 Wochen bei Phaseolus multiflorus: Hauptwurzellänge bis 17 cm, Seitenwurzeln zahlreich, bis 8 cm lang; Stengel bis 7 cm lang; Blätter gesund und kräftig, schon ziemlich ausgebreitet. Linsenkeimlinge: Hauptwurzel bis 12 cm, zahlreiche Seitenwurzeln bis zu 6 cm; Stengel bis 6 cm lang, Laubblätter gesund, in der Entfaltung begriffen. Pisum sativum: Hauptwurzel bis 15 cm lang, Seitenwurzeln bis 6 cm; Stengel bis 10 cm lang, Blätter gesund, in der Entfaltung begriffen, teils schon fertig. Kohl: Hauptwurzel bis 7 cm, hypokotyler Stengel bis 2 1/2 cm, obenauf die 2 Keimblätter, epikotyler Stengel noch nicht entwickelt.

Kontrollversuch (mit Brunnenwasser) nach 3 Wochen: Phaseolus multiflorus: Hauptwurzel bis 7 cm, Seitenwurzeln bis 5 cm lang; Stengel bis 5 cm lang, Blätter in Entfaltung begriffen. Linse: Hauptwurzel bis 3 1/2 cm lang, Seitenwurzeln bis 1 cm lang; Stengel bis 5 cm lang. Pisum sativum: Hauptwurzel bis 4 cm, Seitenwurzeln bis 1 cm lang; Stengel bis 6 cm lang, Blätter noch nicht entfaltet. Kohl: Hauptwurzel bis 1 1/4 cm, hypokotyler Stengel bis 1 1/2 cm lang, epikotyler Stengel noch nicht entwickelt.

Bei 1 % Rubidiumsulfat war nach 3 Wochen die Hauptwurzel von Phaseolus multiflorus durchweg über die Länge von 1 1/2 cm nicht hinausgekommen, sie endigte stumpf und war von unten bis oben nahezu gleich dick, sie war am Ende wie abgeschnitten; die Seitenwurzeln überschritten ebenfalls die Länge von 1 cm nicht; der Stengel war bis 1 1/2 cm lang, die Blätter in der Entfaltung begriffen. Bei Pisum sativum waren inzwischen einige Samen in Fäulnis übergegangen, die anderen zeigten eine bis 3/4 cm lange Hauptwurzel und einen ebenso langen Stengel. Die Linsenkeimlinge waren in der Hauptwurzel nicht über 1 cm, im Stengel nicht über 1 1/2 cm hinausgekommen. Bei Kohl war die Wurzel bis 1 cm, das hypokotyle Stengelglied bis 1 1/2 cm lang.

In 0,5 %iger Rubidiumsulfatlösung waren die Keimlinge nach 3 Wochen ebenfalls zurückgeblieben. Die Hauptwurzel bei Phaseolus war bis 2 1/2 cm lang, der Stengel bis 3 cm, die Blätter waren in Entfaltung begriffen. Bei Pisum sativum war die Hauptwurzel bis 4 cm lang, der Stengel bis 5 cm. Die Linsenkeimlinge hatten eine bis 1 1/2 cm lange Hauptwurzel, einen bis 2 1/2 cm langen Stengel. Kohl: Wurzel bis 1 1/2 cm, hypokotyles Stengelglied bis 2 cm lang.

Also werden die genannten Keimlinge durch Rubidiumsulfat von 1 % und 0,5 % geschädigt, durch 0,2 % Rubidiumsulfat enorm gefördert!

Erwähnt seien hier ferner die Versuche O. Loews über den Rubidium-Einfluß, wodurch zuerst auf den fördernden Einfluß dieses Metalles aufmerksam gemacht wurde.

Mit Rubidiumchlorid und Gerste hat O. Loew folgende Versuche angestellt (Bull. Agric. Coll. Tokyo, Imp. Univ., Vol. V):

Zwei Töpfe mit je 1 kg lufttrockenem Boden erhielten als Gründüngung je 1,5 g Ammonsulfat, 0,5 g Monokaliumphosphat, 1,5 g Calciumsuperphosphat, 1,0 g Kaliumcarbonat und 0,5 g Natriumnitrat. Einer

erhielt außerdem noch 0,2 g Rubidiumchlorid, der andere die äquivalente Menge Natriumchlorid.

In jeden Topf wurden am 14. X. 1910 vorher gequollene Samen ausgesät und die Entwicklung im Glashause beobachtet. Am 21. X. wurden die Pflanzen auf vier pro Topf reduziert, so daß alle von möglichst gleicher Höhe waren. Gegen Ende November zeigte sich ein deutlicher Höhenunterschied zugunsten der Rubidiumpflanzen, der stets zunahm. Die Messung am 17. XII. ergab:

Bei den Rubidiumpflanzen	Kontrollpflanzen
44,6 cm Höhe	39,1 cm Höhe
46,5 „ „	46,0 „ „
46,8 „ „	47,0 „ „
54,3 „ „	49,5 „ „

Die Höhenunterschiede nahmen zu, wie die Augenscheinnahme und eine am 19. I. aufgenommene Photographie erkennen ließen. Dabei waren die Rubidiumpflanzen vollständig normal. Wegen des Auftretens von Pilzen wurden die Pflanzen schon bald nach der Blütenperiode abgeschnitten. Das Gewicht betrug:

Bei den Rubidiumpflanzen:	Kontrollpflanzen:
6,1 g Ähren-Frischgewicht	3,7 g Ähren-Frischgewicht
81,3 g lebende Blätter (Frischgewicht)	53,3 g lebende Blätter (Frischgewicht)
5,2 g abgestorbene Blätter (lufttrocken).	4,8 g abgestorbene Blätter (lufttrocken).

Ähnliche Unterschiede ergaben sich bei Versuchen mit Brassica chinensis:

Drei Töpfe mit je 1 kg Boden wurden gedüngt mit 1 g Kaliumnitrat, + 0,5 g Ammonsulfat, + 0,5 g KH_2PO_4. Außerdem erhielt Topf a) 10 mg Rubidiumchlorid, b) 50 mg RbCl, c) diente zur Kontrolle. Am 21. X. wurden die Samen ausgesät, am 17. IX. wurden Messungen vorgenommen. Das längste Blatt hatte folgende Länge:

Bei a)	b)	c) (Kontrolle)
cm	cm	cm
21,0	14,0	16,5
22,4	19,1	17,0
28,2	25,5	21,1

Am 22. XII. wurden die Pflanzen ausgezogen, die Wurzeln gereinigt und mit Fließpapier abgetrocknet, dann die ganzen Pflanzen im frischen Zustand gewogen:

Frischgewicht bei a)	b)	c)
g	g	g
14,3	6,1	10,1
16,7	14,0	10,2
18,8	25,2	15,0

Der Unterschied zugunsten der Rubidiumpflanzen ist unverkennbar.

Über Caesium und Lithium wurden von mir folgende Beobachtungen gemacht:

In 1% Caesiumsulfat kamen Keimlinge, die zuvor in Brunnenwasser gewesen waren, nicht mehr vorwärts. Es wirkt also in dieser Konzentration ungünstig.

0,5% Caesiumsulfat. Auch diese Konzentration äußert bald eine schädliche Einwirkung. Die Keimlinge von Phaseolus multiflorus, Ervum Lens, Pisum sativum, Brassica oleracea hörten darin bald auf zu wachsen und gingen dann zwar nicht ein, zeigten aber eine abnorme Verdickung aller Teile und eine enge Verzweigung der Wurzeln[1]).

Sogar noch geringere Prozentsätze erwiesen sich als schädlich.

0,2% Caesiumsulfat, also die bei Rubidiumsulfat vorteilhaft wirkende Konzentration, bedingt zwar kein Aufhören des Wachstums der Keimlinge, aber doch eine Verzögerung. Nach 11 Tagen betrug in der Caesiumschale die Hauptwurzellänge bei Phaseolus 1½ bis 3 cm, bei den Ph.-Keimlingen der Kontrollschale 9 bis 12 cm; die Länge der oberirdischen Teile im ersten Falle bis 4 cm, im letzten Falle bis 12 cm. Am Pisum war die Wurzellänge bei CO-Zusatz 2 cm, die Länge der oberirdischen Teile bis 3 cm; in Brunnenwasser ergab die Messung 6 und 8 cm. Ebenso groß waren die Unterschiede auch bei der Linse.

Ich versuchte nun 0,1% Caesiumsulfat. Die Samen wurden in dieser Lösung eingequellt und keimen gelassen (auf Fließpapier, das 2 mm hoch mit der Lösung bedeckt war). Die Keimung ging normal vor sich. Gegenüber einem gleichzeitig aufgestellten Kontrollversuch zeigten die Bohnen-, Erbsen-, Linsen- und Kohlkeimlinge zunächst kein Zurückbleiben. Beim weiteren Wachstum allerdings schienen sie doch etwas benachteiligt zu sein. Ähnlich fiel auch ein Versuch mit 0,05% Caesiumsulfat aus. Eine Beschleunigung des Wachstums war mit diesen Konzentrationen keinesfalls bei Caesiumsalzanwendung festzustellen.

O. Loew hat die günstige Wirkung des Rubidiums (Chlorrubidium), das er in geringen Mengen zu der Erde der Topfpflanzen von Brassica chinensis, Gerste, Spinat hinzusetzt, deutlich nachweisen können.

Die Trockensubstanz betrug z. B. an der Rubidiumpflanze von Brassica chinensis bei 3 Exemplaren nach 2 Monaten 14,3 g bzw. 16,7 g bzw. 18,8 g, bei den 3 Kontrollpflanzen 10,1, 10,2 und 15,0 g.

Bei Gerste betrug die Höhe der Rubidiumpflanzen nach 2 Monaten 44,6, 46,5, 46,8, 54,3 cm, bei den Kontrollpflanzen 39,1, 46,0, 47,0, 49,5 cm; das Frischgewicht der Ähren nach 3 Monaten bei den Rubidiumpflanzen 6,1 g, bei den Kontrollpflanzen 3,7 g.

Spinat zeigte folgende Unterschiede bei der Samenreife: Gewicht der größten Rubidiumpflanze 18,2 g, der größten Kontrollpflanze 12,0 g.

---

[1]) Als diese Keimlinge nach 18 Tagen in frisches Wasser gebracht wurden, blieb diese Wachstumshemmung und Neigung zur Verdickung der Teile bestehen. Das Caesiumsalz mußte also dauernde innere Schädigung hervorgerufen haben.

Über Lithium ergaben meine Keimversuche sowohl wie auch die Hefeernährungsversuche, daß dasselbe schädlich wirke, schon in der Konzentration 0,2%. Ähnlich bei Keimlingen. Erst 0,01 ist unschädlich, 0,005 beschleunigt das Wachstum der Keimlinge.

Samen von Phaseolus multiflorus, Pisum sativum, Ervum Lens, Brassica oleracea wurden auf Fließpapier, das 2 mm hoch mit 0,2% Lithiumsulfat übergossen war, keimen gelassen. Sie kamen alle zusammen über das allererste Stadium, Aufspringen der Samenschale und Freilegung der Wurzel, nicht hinaus. Hierauf starben sie ab und bedeckten sich an der Oberfläche mit Bakterien und Schimmel.

Bei nur 0,05% Lithiumsulfat entwickelten sich die Samen zunächst normal, blieben aber später etwas im Wachstum zurück gegenüber dem Kontrollversuch. Auch andere Pflanzen, wie oben, kamen zur Verwendung; 0,1% und weniger wurden zum Vergleich nochmal herangezogen.

Es wurden nun bei Caesium und Lithium noch weitere Verdünnungen versucht.

In 0,05% Caesiumsulfat gekeimte Samen von Gerste schienen mir nach 2 Tagen gleich weit zu sein wie die der Kontrollversuche; desgl. die von Cosmea bipinnata, ferner die von Clarkia, ebenso auch die von Centaurea cyanus. Nach 2 Tagen war also nirgends ein Unterschied gegenüber dem Kontrollversuch hervorgetreten. Inwieweit dies später zum Vorschein kam, soll nun bei den verschiedenen Keimlingen einzeln aufgezählt werden.

Da die Samen von Clarkia, Cosmea bipinnata, Centaurea cyanus, ferner von Gerste rasch keimen, wurden auch diese mit Rubidiumsalzen keimen gelassen, aber zum Teil mit noch größeren Verdünnungen als 0,2%, zum Vergleich wurden auch Bohnen und Linsen daneben gelegt.

Clarkia und 0,2% Rubidiumsulfat: Nach 22 Tagen Keimlinge etwas voran gegen den Kontrollversuch (mit Brunnenwasser). Nach 9 Tagen konnte ich einen Unterschied zugunsten der Rubidiumpflanzen nicht mehr konstatieren.

Clarkia und 0,1% Rubidiumsulfat: Keimlinge nach 2 Tagen etwas voran gegen den Kontrollversuch. Nach 8 Tagen schienen mir die oberirdischen Teile etwas stärker entwickelt als bei den Kontrollpflanzen, die Wurzeln ungefähr gleich.

Clarkia und 0,5% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen waren die Keimlinge gleich groß mit denen des Kontrollversuches.

Bei Clarkia ist also eine deutlich fördernde Einwirkung des Rubidiumsulfates kaum zu konstatieren.

Cosmea bipinnata und 0,2% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen waren die Keimlinge etwas voran gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen waren die Keimlinge ebenfalls merklich besser entwickelt als beim Kontrollversuch, in allen Teilen kräftiger.

Cosmea bipinnata und 0,1% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen

waren die Keimlinge ungefähr gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 9 Tagen die Keimlinge viel größer und kräftiger als beim Kontrollversuch.

Cosmea bipinnata und 0,5% Rubidiumsulfat. Die Keimlinge waren nach 2 Tagen ungefähr gleich mit denen des Kontrollversuches. Nach 9 Tagen zeigten sich die Cosmeakeimlinge sehr kräftig entwickelt und denen des Kontrollversuches überlegen.

Cosmea bipinnata zeigte also recht beträchtliche Keimungsbeschleunigung durch Rubidiumsulfat (0,1 bis 0,5%).

Centaurea cyanus und 0,2% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen schienen mir die Keimlinge nicht voran zu sein gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen aber war eine beträchtlich stärkere Entwicklung aller Teile zu konstatieren; namentlich das hypokotyle Stengelglied war viel länger und stärker.

Centaurea cyanus und 0,1% Rubidiumsulfat: Keimlinge nach 2 Tagen ungefähr gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 9 Tagen die Keimlinge viel stärker entwickelt als beim Kontrollversuch, namentlich ihre hypokotylen Stengelglieder.

Centaurea cyanus und 0,5% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen kein erheblicher Unterschied gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen waren die Rubidiumkeimlinge denen des Kontrollversuches nicht überlegen.

Auch bei Centaurea cyanus ist demnach eine Keimungsbeschleunigung durch Rubidiumsulfat (0,1 bis 0,2%) festzustellen. Hingegen wirken 0,5% hier nicht mehr keimungsbeschleunigend.

Gerste und 0,2% Rubidiumsulfat. Die Keimlinge waren nach 2 Tagen nicht voran gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen Wurzel und oberirdische Teile viel stärker entwickelt als beim Kontrollversuch; die Wurzeln erschienen aber etwas stark verkrümmt, so daß erst nach dem Auseinanderziehen ihre wahre Länge gesehen werden konnte.

Gerste und 0,1% Rubidiumsulfat: Keimlinge nach 2 Tagen nicht weiter als die des Kontrollversuches. Nach 9 Tagen die Wurzeln kräftiger entwickelt als beim Kontrollversuch.

Gerste und 0,5% Rubidiumsulfat: Nach 2 Tagen Keimlinge zurück gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen Rb-Gerstenkeimlinge den Kontrollkeimlingen ungefähr gleich; Wurzeln kräftiger, aber kürzer.

Für Gerste ist also 0,2% Rubidiumsulfat die richtige Konzentration, um Keimungsbeschleunigung festzustellen.

Clarkia und 0,05% Caesiumsulfat: Nach 9 Tagen waren die Keimlinge dieses Versuches weit hinter denen des Kontrollversuches zurückgeblieben, von den grünen Keimblättern war nichts zu sehen, nur die Wurzel war hervorgetreten. Bei Clarkia also Schädigung durch 0,05% Caesiumsulfat!

Cosmea bipinnata und 0,05% Caesiumsulfat: Nach 9 Tagen die Keimlinge ziemlich entwickelt, nur wenig hinter dem Kontrollversuch zurück.

Also keine Keimungsbeschleunigung bei Cosmea bipinnata durch 0,05% Caesiumsulfat.

Centaurea cyanus und 0,05 % Caesiumsulfat: Nach 9 Tagen die Keimlinge ziemlich gleich mit denen des Kontrollversuches.

Also auch hier keine Keimungsbeschleunigung durch 0,05 % Caesiumsulfat!

Gerste und 0,05 Caesiumsulfat: Nach 9 Tagen Gerstenkeimlinge in den oberirdischen Teilen gebleicht, das Wurzelsystem schwach ausgebildet. (Bohnen und Erbsen, ferner Linsen, die gleichzeitig in derselben Schale ausgelegt worden waren, zeigten sich freilich ziemlich normal entwickelt, ja es ließ sich bei ihnen sogar eine kräftigere Entwicklung erkennen als an denen des Kontrollversuches; Wurzel und Stamm waren kräftiger ausgebildet.)

Gerste wird durch 0,05 % Caesiumsulfat etwas geschädigt.

Clarkia und 0,1 % Caesiumsulfat: Nach 2 Tagen gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 9 Tagen die Keimlinge dieses Versuches weit hinter dem Kontrollversuch zurückgeblieben, meist am Absterben.

0,1 % Caesiumsulfat wirkt also schädlich auf Clarkia-Keimlinge ein.

Cosmea bipinnata und 0,1 % Caesiumsulfat: Nach 2 Tagen etwas zurück gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen Keimlinge weit zurück gegen den Kontrollversuch.

0,1 % Caesiumsulfat beeinträchtigt auch Cosmea in der Keimung,

Centaurea cyanus und 0,1 % Caesiumsulfat: Nach 2 Tagen etwas zurück gegen den Kontrollversuch. Nach 9 Tagen waren die Keimlinge weit zurückgeblieben gegen den Kontrollversuch.

Ebenso ist 0,1 % Caesiumsulfat schädlich für Kornblumenkeimlinge.

Gerste und 0,1 % Caesiumsulfat: Nach 2 Tagen gleich mit dem Kontrollversuch. Nach 9 Tagen Gerstenkeimlinge zurückgeblieben in allen Teilen; oberirdische Teile vergilbend (an den gleichzeitig angesetzten Bohnen-, Linsen- und Erbsenkeimlingen waren freilich die oberirdischen Teile tiefgrün).

0,1 % Caesiumsulfat wirkt also auch gegenüber den Gerstenkeimlingen meist schädlich. Sogar 0,05 % hat auf manche Keimlinge eine schädliche Einwirkung.

Nun wurde noch Gerste mit 0,01 % Caesiumsulfat keimen gelassen. Hier war der Befund ein entgegengesetzter!

Damit war offenbar die richtige Verdünnung erreicht. Die Keimlinge erfuhren schon binnen 5 Tagen eine auffallende Förderung in ihrer Entwicklung durch 0,01 % Caesiumsulfat.

Man ersieht auch hieraus wiederum, wie sorgfältig man mit der Auswahl der Konzentrationen bei solchen Versuchen sein muß.

1 % Chlorkalium: Die auf Fließpapier mit Brunnenwasser bereits gekeimten etwa 6 Tage alten Keimlinge wurden in 1 % ige Chlorkaliumlösung mit ihrer Wurzel gesetzt und als Wasserkulturen zunächst ohne weiteren Zusatz weiter gezogen. Feuerbohne und Puffbohne wuchsen langsam weiter. Stengel und Wurzeln wurden viel

dicker und kürzer als beim Kontrollversuch und den Versuchen mit 0,1 bis 0,025 % Chlorkalium. Die Verzweigung der Wurzeln war eine sehr dichte, die Auszweigungen wuchsen sehr langsam. Um die Schädlichkeit allzu warmer und trockner Luft von den Keimlingen abzuhalten, wurden dieselben nach 20 Tagen in ein ungeheiztes Zimmer von ca. 10 bis 12° C gestellt (März).

0,5 % und 0,25 % Chlorkalium wirkten auch in ähnlichem Sinn wie 1 %, aber doch bedeutend schwächer.

0,1 und 0,05 und 0,025 % Chlorkalium ließ ein rasches Wachstum der Bohnenpflanzen zu, so daß dieselben bis 5mal länger wurden als die Pflanzen in 1 % Chlorkalium.

Nach 5 Wochen zeigten die Phaseolus-Pflanzen wie auch die Puffbohnen in 1 % KCl keine Fortschritte im Wachstum mehr; die oberirdischen Teile waren bei der Puffbohne abgestorben, bei Phaseolus multiflorus noch am Leben. An dem Erbsenkeimling waren Wurzel- und oberirdische Teile abgestorben.

In 0,25 % KCl war die Erbsenwurzel noch am Leben nach 5wöchentlichem Aufenthalt in dieser Lösung und wies sogar eine bedeutende Länge auf, dagegen waren die oberirdischen Teile abgestorben. Ähnlich verhielt sich der Puffbohnenkeimling. Dagegen wies die Feuerbohne in dieser Lösung gesunde unter- und oberirdische Teile auf.

In 5 % Chlorkalium wuchsen Phaseolus-Keimlinge nicht weiter, sondern starben binnen 2 Tagen ab; die Lösung trübte sich von Bakterien. Auch in 2 % KCl wurden die Wurzeln schlaff und saugten nicht mehr, starben dann ab.

1 % schwefelsaures Ammon: Darin gingen mir Feuerbohnen- und Puffbohnenkeimlinge zugrunde; ebenso Erbsenkeimlinge. In 0,5 % wuchsen die Keimlinge ganz langsam heran, so daß nach 14 Tagen vielfach noch keine oberirdischen Teile, sondern nur Wurzeln sich entwickelten, diese aber sehr kurz. Auch in 0,25 % schwefelsaurem Ammon war die Verzögerung noch deutlich bemerkbar. Die Keimlinge in 0,1 % schwefelsaurem Ammon schienen auch noch etwas zu leiden. In 0,05 % trat eine annähernd normale Entwicklung ein. Aber auch die Bohnen- und Erbsenkeimlinge in 0,25 % schwefelsaurem Ammon blieben frisch und gesund, wenn auch das Wachstum recht langsam vor sich ging. Erst nach 14 Tagen zeigte sich ein Anfang von Austrocknung und Verdorrung bei einem der Laubblätter.

1 % Monokaliumphosphat schädigte Keimlinge von Phaseolus multiflorus binnen 8 Tagen nicht im geringsten. Die Wurzelspitzen verlängerten sich, neue Seitenwurzeln kamen zum Vorschein, die oberirdischen Teile hatten frisches, sattgrünes Aussehen. Sogar in 2 % Monokaliumphosphat war keine Schädigung innerhalb dieser Zeit zu bemerken. Nach weiteren 4 Tagen freilich schien bei 2 % KH_2PO_4 das eine der beiden Laubblätter vertrocknen zu wollen; an beiden Blättern blieb der Entfaltungsvorgang etwas zurück. Doch verschwand diese ungünstige Wirkung nach einiger Zeit und die Entwicklung dieses Keim-

lings nahm weiterhin einen recht üppigen Verlauf. Es handelt sich hier offenbar um einen Stoff, der dem Wachstum günstig ist und selbst in bedeutenden Konzentrationen nicht schädlich wirkt. Doch konnte ich ein entschiedenes Vorauseilen im Wachstum nicht beobachten.

In 1% Magnesiumsulfatlösung blieben Phaseolus-Keimlinge 8 Tage lang gesund, wenn auch das Wachstum ziemlich stillstand. Bei weiterem Zuwarten freilich gingen die Keimlinge ein; also wirkt Magnesiumsulfat in dieser Konzentration schädlich.

In 1% Chlorcalcium schien sich das Wurzelsystem von Phaseolus gut zu entwickeln, der Stengel war sehr steif, dick und tiefgrün, die Blätter entfalteten sich aber nicht und vertrockneten, es bildeten sich aber 3 neue Sprosse. In 1% Calciumsalpeter verhielten sich die Keimlinge zunächst ähnlich; der Stengel führte die geotropische Aufwärtskrümmung von der ursprünglich horizontalen Lage in die senkrechte tadellos aus. Sogar in 2%iger Chlorcalcium-Lösung wuchsen die Wurzeln eines Phaseolus-Keimlings langsam weiter. In 1% $Ca(NO_3)_2$ ging das Wurzelwachstum später nicht mehr so lebhaft weiter wie bei 1% $CaCl_2$, die oberirdischen Teile verdorrten.

In 2% Magnesiumsulfat waren die Wurzeln eines Phaseolus-Keimlings binnen 4 Tagen schlaff, nach 10 Tagen war das ganze Wurzelsystem abgestorben, an dem oberirdischen Teil zeigte sich ein Verdorren der jungen Knospe.

Calcium und Magnesium gehören nun allerdings nicht zu den Alkalimetallen; doch dürfte der Vergleich von Interesse sein.

Da in den obenerwähnten Chlorkaliumversuchen der Kontrollversuch nach einiger Zeit verloren ging, wurde noch ein weiterer Versuch aufgestellt:

In 0,05% Chlorkalium wiesen Gerstenkeimlinge nach 8 Tagen oberirdische Teile mit bis 11 cm Länge, Wurzeln bis 7 cm Länge auf. Linsen hatten nach derselben Zeit einen Stengel bis 6 cm und eine Wurzel bis 7 cm Länge.

Beim Kontrollversuch waren nach 8 Tagen die Wurzeln der Gerstenkeimlinge bis 6 cm, die oberirdischen Teile bis 12 cm lang. Die Hauptwurzeln der Linsen bis 6 cm, die oberirdischen Teile bis 5 cm lang. Die Hauptwurzel der Bohnen bis 5 cm, der Stengel bis 5 cm lang (alles nach 8 Tagen).

Beschleunigung durch 0,05% Chlorkalium demnach nicht zu bemerken; aber auch keine Verzögerung.

Nach 14 Tagen wurde der Versuch nochmals besichtigt. Auch jetzt schien mir kein erheblicher Unterschied zwischen dem Chlorkalium und dem Kontrollversuch zu sein; nur bei den Linsenkeimlingen erwies sich das Wurzelsystem der Chlorkaliumpflanzen durchweg besser entwickelt als bei den Kontrollpflanzen.

Die Schädlichkeit des Chlorkaliums bei Konzentration über 0,1%, etwa von 0,2% an, ist bis jetzt in ihren Ursachen nicht aufgeklärt.

Bei gleicher Konzentration sind zahlreiche andere Alkalisalze ganz unschädlich. Rubidiumsulfat fördert sogar das Wachstum der Keimlinge bei einer Konzentration von 0,2 %.

Monokaliumphosphat wirkt in der Konzentration 1 % nicht im geringsten schädlich auf Keimlinge ein, wie oben gezeigt wurde. Sogar 2 % Monokaliumphosphat tut keinen Schaden.

An dem Säurerest Cl kann es auch nicht liegen, da doch Chlornatrium von den Pflanzen in erheblicher Menge vertragen wird (Salzpflanzen, Strandpflanzen, Meerespflanzen; letztere ertragen 3 % Chlornatrium). Auch Chlorcalcium ist unschädlich (sogar 1 % hindert die Keimung nicht).

An Verunreinigungen mit Magnesiumsalz ist wohl auch nicht zu denken, da das Kaliumchlorid durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser genügend von diesem gereinigt werden kann.

Auch ist das Magnesiumsulfat z. B. nicht schädlich; es wird von Keimlingen bis zu 1 % ertragen. In Konzentrationen unter 0,1 % wird es sogar zur Ernährung von Wasserkulturen angewendet.

Daß schwefelsaures Ammon in Konzentrationen von 0,1 % an schädlich auf die genannten Keimlinge wirkt, ist nach dem bisher Bekannten nicht sehr zu verwundern. Denn die schädliche Wirkung der Ammonsalze auf Blütenpflanzen ist ja schon öfters hervorgehoben worden.

Verfasser hat erst neulich wieder (Centralbl. f. Bakt. **32**, 596, 1912) hervorgehoben, daß Gerste und Kresse in der Keimung verzögert werden, nicht bloß durch 1 %, sondern auch durch 0,25 % Ammonsulfat.

Auch Ammonsalpeter wirkt in den eben genannten Konzentrationen schädlich auf die Keimpflanzen von Kresse, Weizen, Gerste, Wicke ein.

Freies Ammoniak ist so außerordentlich schädlich, daß schon 0,01 % davon die Keimung zahlreicher Samen zu verzögern vermag. Bei Gerste tritt dieselbe überhaupt nur sehr schwach ein.

Es ist zweifellos eine eigene Sache mit dieser Schädlichkeit, die sicher nachgewiesen ist.

Erstens woher diese Schädlichkeit? Sollte nicht die Reaktionsfähigkeit des Plasmaeiweißes mit Ammoniak eine recht große sein infolge des Vorhandenseins von Aldehydgruppen?

Zweitens, ist denn das Ammoniak nicht eine Vorstufe des Eiweißes? Man muß es wohl annehmen. Der Salpeter, der scheinbar zur Eiweißbildung dient, wird zu allererst in Ammoniak verwandelt (Eiweiß enthält Amidogruppen). Es ist also auch hier, wie bei der Kohlenhydratentstehung aus CO_2, ein giftiger Stoff als Vorstufe anzunehmen. Die Pflanzen beseitigen eben den Giftstoff sehr rasch.

Tabellarische Zusammenstellung einiger Resultate.

	Feuerbohnenkeimlinge	Erbsenkeimlinge	Linsenkeimlinge	Kohl (Blaukohl)-keimlinge
Kontrollversuch mit Brunnenwasser	Nach 8 Tagen Wurzel bis 3 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 7 cm, Seitenwurzeln bis 5 cm lang. Stengel bis 5 cm lang, Blätter in Entfaltung begriffen.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 3 cm lang, sehr kräftig, oberirdischer Teil bis 2 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 4 cm lang, Seitenwurzeln bis 1 cm, Stengel bis 6 cm lang. Blätter noch nicht entfaltet.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 3 cm lang, oberirdischer Teil bis 2 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis $3^1/_2$ cm, Seitenwurzeln bis 1 cm; Stengel bis 5 cm lang.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 1 cm lang, oberirdischer Teil bis 1 cm lang. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis $1^1/_4$ cm, hypokotyler Stengel bis $1^1/_2$ cm, epikotyler Stengel noch nicht entwickelt.
0,2 % Rubidiumsulfat	Nach 8 Tagen Wurzel bis 3 cm lang. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 17 cm, Seitenwurzeln zahlreich, bis 8 cm lang; Stengel bis 7 cm lang; Blätter kräftig, schon ziemlich ausgebreitet. Eine der Bohnenpflanzen wurde 3 Monate lang weiter gezogen, sie entwickelte sich sehr kräftig.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 4 cm lang, oberirdischer Teil bis 2 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 15 cm, Seitenwurzeln bis 6 cm; Stengel bis 10 cm lang. Blätter gesund in der Entfaltung begriffen, zum Teil schon fertig.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 4 cm, oberirdischer Teil bis 2 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 12 cm, Seitenwurzeln zahlreich, bis 6 cm. Stengel bis 6 cm. Laubblätter gesund, in der Entfaltung begriffen.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 1 cm, oberirdischer grüner Teil bis 1 cm. Nach 3 Wochen Wurzel bis 7 cm, hypokotyles Stengelglied bis $2^1/_2$ cm, epikotyler Stengel noch nicht entwickelt.
0,5 % Rubidiumsulfat	Nach 8 Tagen Wurzel bis 2 cm lang, sehr dick, Verzweigung beginnend. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis $2^1/_2$ cm, Stengel bis 3 cm, Blätter in der Entfaltung begriffen.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 2 cm lang, oberirdischer Teil bis 1 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 4 cm lang, Stengel bis 5 cm.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 2 cm lang, oberirdischer Teil bis $1^1/_2$ cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis $1^1/_2$ cm, Stengel bis $2^1/_2$ cm lang.	Nach 8 Tagen Wurzel bis $^1/_2$ cm, oberirdischer Teil bis $^3/_4$ cm. Nach 3 Wochen Wurzel bis $1^1/_2$ cm, hypokotyles Stengelglied b. 2 cm lang.

	Feuerbohnenkeimlinge	Erbsenkeimlinge	Linsenkeimlinge	Kohl (Blaukohl)-keimlinge
1 % Rubidiumsulfat	Nach 8 Tagen Wurzel bis 1 1/2 cm, oberirdischer Teil nicht entwickelt. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 1 1/2 cm, am Ende wie abgeschnitten (Vegetat. Punkt erloschen); Seitenwurzeln bis 1 cm; Stengel bis 1 1/2 cm; Blätter in der Entfaltung begriffen.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 3/4 cm, oberirdischer Teil bis 1 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 3/4 cm (einige Samen waren in Fäulnis übergegangen). Stengel bis 1 cm.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 1 1/4 cm, oberirdischer Teil bis 1 cm. Nach 3 Wochen Hauptwurzel bis 1 cm, Stengel bis 1 1/2 cm.	Nach 8 Tagen Wurzel bis 1/2 cm, oberirdischer Teil bis 3/4 cm. Nach 3 Wochen Wurzel bis 1 cm lang, hypokotyles Stengelglied bis 1 1/2 cm.

Aus den eben angeführten Versuchen ergibt sich, daß die genannten Keimlinge durch Rubidiumsulfat von 1 % geschädigt, durch 0,5 % meistens geschädigt, durch 0,2 % enorm gefördert werden. Nur Kohlkeimlinge erfahren durch 0,2 %ige Rubidiumsulfatlösung keine ersichtliche Wachstumsbeschleunigung. Die Förderung der übrigen ist in den ersten 8 Tagen schon zu bemerken, sehr in die Augen springend aber nach 2 bis 3 Wochen. Es ist ratsam, die Versuche nicht zu früh abzubrechen.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Kohl	Gerste
Caesiumsulfat 1 %	Keimlinge, die zuvor in Brunnenwasser gekeimt hatten, kamen in 1 % Caesiumsulfat nicht mehr vorwärts.	Wachstum der Keimlinge wird unterdrückt.	Wachstum der Keimlinge unterdrückt.	Keimlingswachstum unterdrückt.	
Caesiumsulfat 0,5 %	Keimlinge hören auf zu wachsen, zeigen dann eine starke Verdickung aller Teile und dichte Verzweigung der Wurzeln[1]).	Wie Bohnen.	Wie Bohnen.	Wie Bohnen.	

[1]) Als die Keimlinge nach 18 Tagen in frisches Wasser gebracht wurden, blieb diese Wachstumshemmung und Neigung zur Verdickung der Teile bestehen. Das Caesium mußte also (bei dieser Konzentration) eine dauernde innere Schädigung hervorgerufen haben.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Kohl	Gerste
Caesiumsulfat 0,2 %	Nach 11 Tagen Hauptwurzellänge $1^1/_2$ bis 3 cm (bei den Kontrollpflanzen 9 bis 12 cm); oberird. Teil bis 4 cm (bei Kontrollpflanzen bis 12 cm).	Nach 11 Tgn. Wurzellänge bis 2 cm (bei Kontrollpfl. 6 cm); oberird. Teile bis 3 cm (bei Kontrollpfl. bis 8 cm).	Ähnliche Unterschiede wie bei Bohnen und Erbsen.		
Caesiumsulfat 0,1 %	Keimung zuerst normal; kein Zurückbleiben gegen den Kontrollversuch. Beim weiteren Wachstum Keimlinge doch etwas benachteiligt.	Wie bei Bohnen	Wie bei Bohnen.	Wie bei Bohnen.	
Caesiumsulfat 0,05 %	Resultat ähnlich wie bei 0,1 %.				
Caesiumsulfat 0,01 %					Nach 8 Tagen Förderung sehr deutlich, Keimlinge viel länger und kräftiger ausgebildet.

Somit wirkt 1 % Caesiumsulfat, ferner 0,5 % und 0,2 % entschieden schädlich; 0,1 % verursacht zunächst keine Schädigung der Keimlinge, doch kommt nach einiger Zeit eine Benachteiligung zustande. 0,01 % aber erweist sich als wachstumsfördernd bei Gerste.

Die wachstumsfördernde Konzentration liegt bei Caesium demnach bedeutend tiefer als bei Rubidium; das ist wohl auch der Grund gewesen, warum diese Sache nicht früher aufgefunden wurde. Man muß hier mit der Verdünnung so weit gehen, daß man überhaupt keine Wirkung mehr erwartet. Bemerkenswert ist hier, daß das Atomgewicht des Caesiums bedeutend größer ist als das des Rb (132 gegen 85).

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Blaukohl
Lithiumsulfat 0,2 %	Kommen darin über das allererste Keimungsstadium nicht hinaus.	Ebenso wie Bohnen.	Wie Bohnen.	Wie Bohnen.

	Bohnen	Erbsen	Linsen	Blaukohl
Lithium-sulfat 0,05 %	Keimlinge kamen zunächst normal aus dem Samen hervor, später blieben sie etwas gegen den Kontrollversuch zurück.	Ebenso wie Bohnen.	Ebenso wie Bohnen.	Wie Bohnen.
Lithium-sulfat 0,01 %		Die Erbsen-keimlinge zeigten einen kleinen Vorsprung gegen die Kontroll-keimlinge.	Ziemlich gleich mit Kontroll-versuch.	
Lithium-sulfat 0,005 %		Beträchtlicher Vorsprung gegen Kontrollversuch nach 8 Tagen.	Beträchtlicher Vorsprung gegen Kontrollversuch nach 6 Tagen.	

Es gibt also auch bei Lithiumsalzen (Sulfat) eine Konzentration, die auf das Wachstum der Keimlinge beschleunigend wirkt.

	Bohnen	Erbsen
Chlorkalium 1 %	Keimlinge wachsen langsam weiter, Stengel und Wurzeln werden viel dicker als beim Kontrollversuch, Verzweigung der Wurzeln eine sehr dichte, Auszweigungen der Wurzeln wachsen sehr langsam (Feuerbohne und Puffbohne). Nach 5 Wochen zeigten die Phaseolus-Pflanzen keine Fortschritte mehr im Wurzelwachstum. Oberirdische Teile bei Phaseolus noch am Leben, bei Puffbohnen aber abgestorben.	Erbsenkeimlinge zeigen ähnliche Erscheinungen wie Bohnen. Nach 5 Wochen sind Wurzel und Stengel abgestorben.
Chlorkalium 0,25 und 0,5 %	Wachstum auch etwas verlangsamt, aber in geringerem Maße. Nach 5 Wochen Keimlinge in 0,25 % noch am Leben, nur bei Puffbohnen oberirdische Teile abgestorben.	Erbsenwurzel in 0,25 % nach 5 Wochen noch am Leben, ziemlich lang, oberirdische Teile abgestorben.

	Bohnen	Erbsen	Gerste
Chlorkalium 0,1 und 0,05 und 0,025 %	Rasches Wachstum, Keimlinge nach einiger Zeit bis 5 mal länger als die in 1 % Chlorkalium.		

	Bohnen	Erbsen	Gerste
Chlorkalium 0,05 %			Beschleunigung des Wachstums nicht zu bemerken, aber normale Entfaltung.
Chlorkalium 5 %	Keimlinge wachsen nicht weiter, sterben binnen 2 Tagen ab.		
Chlorkalium 2 %	Keimlinge sterben unter Schlaffwerden der Wurzeln ab.		
Calciumnitrat 0,1 %	Keimlinge nach 3 Tagen schon voraus gegen den Kontrollversuch, noch mehr nach 17 Tagen. (Spirogyren werden enorm gefördert im Wachstum und Stärkeverbrauch bei Dunkelheit.)	Keimlinge nach 17 Tagen weit voran gegen den Kontrollversuch.	Hier kaum ein Unterschied zugunsten des Calciumnitrats gegen den Kontrollversuch.
Monokaliphosphat 1 %	Keimlinge binnen 8 Tagen nicht im geringsten geschädigt; doch auch keine zweifellose Wachstumsbeschleunigung feststellbar binnen 8 Tagen.		
Monokaliphosphat 2 %	Zunächst binnen 8 Tagen keine ungünstige Wirkung, dann binnen weiteren 4 Tagen einiger Rückgang in der Entwicklung der Laubblätter. Die ungünstige Wirkung verschwand dann wieder, nun recht üppige Entwicklung.		

Über die quantitative Bestimmung von Glucose bei Gegenwart von fremden Stoffen nach der analytischen Methode von Gabriel Bertrand.

Von

M. Rosenblatt.

(Aus dem Institut Pasteur, Paris.)

(Eingegangen am 25. Juni 1912.)

C. Neuberg und M. Ishida[1]) haben bei ihren Untersuchungen über die polarimetrische Bestimmung des Zuckergehaltes in Gegenwart von optisch aktiven N-haltigen Körpern vorgeschlagen, die Zucker enthaltende Lösung von den anwesenden tieferen Eiweißspaltungsprodukten — Peptonen, Aminosäuren und Amiden — mittels Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure zu befreien und den Zuckergehalt alsdann polarimetrisch zu bestimmen.

Es unterliegt jedoch keinem Zweifel, daß jede polarimetrische Methode sogar in Abwesenheit fremder optisch aktiver Körper an dem wichtigen Übelstande leidet, eine geringere Empfindlichkeit bei Gegenwart kleiner Zuckermengen zu besitzen. Die Bestimmung kann erst bei höherem Zuckergehalte (z. B. einige Gramm im Liter) mit genügender Genauigkeit ausgeführt werden. Infolgedessen ist die polarimetrische Methode bei vielen exakten wissenschaftlichen Untersuchungen, sowie in manchen biologischen und klinischen Fällen kaum brauchbar: es ist z. B. unmöglich, genau kleinere Glucosemengen im Harn zu bestimmen usw.

Seit einigen Jahren besitzen wir aber eine Zuckerbestimmungsmethode von Gabriel Bertrand[2]), die sich durch Prä-

---

[1]) C. Neuberg und M. Ishida, diese Zeitschr. **37**, 142, 1912.

[2]) Gabriel Bertrand, Bull. Soc. Chim de France, 3e série, **35**, 1285, 1906. Siehe auch eine abgekürzte Beschreibung der Methode in dem Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden von E. Abderhalden 2, 181, 1910. Dabei ist aber zu **korrigieren** nach dem Original-

zision und Einfachheit auszeichnet und für beliebige Zuckerkonzentrationen anwendbar ist[1]).

Der Bertrandschen Methode verdanken wir eine Reihe Untersuchungen, besonders auf dem Gebiete der Ferment- und physiologischen Chemie.

Es ist leicht, Glucose nach Bertrand zu bestimmen, auch in einem der von Neuberg und Ishida angezeigten Fälle, d. h. wenn der Zucker in Gegenwart von Aminosäuren und ähnlichen Körpern bestimmt werden muß. Die soeben erwähnten Stoffe muß man in diesem Falle vorher durch ein geeignetes Mittel entfernen.

Die Anwesenheit mancher dieser fremden Körper stört aber die Genauigkeit der Bestimmung nach Bertrand nicht. Ich habe mich durch Versuche, die mit Lösungen eines bestimmten Gehaltes von Glucose und Aminosäuren u. dgl. ausgeführt waren, vergewissert, daß viele Aminosäuren und Amide ohne vorherige Ausfällung auf die Glucosebestimmung nach Bertrand keinen wesentlichen Einfluß ausüben.

Ich habe den Einfluß des Glykokolls, Alanins, Leucins, Tyrosins (in gesättigter Lösung), der Asparaginsäure, des Asparagins, Betains, Glutamins, Harnstoffs und der Peptone von Chapoteaut sowie von Witte, untersucht.

Meine Arbeitsweise war die folgende: Bereitet wurde eine Glucoselösung, die 50 mg Zucker in 10 ccm H_2O enthielt. Aminosäuren und andere Stoffe, genau abgewogen (meistens 4 bis 8 mal mehr im Gewicht als die verwendete Glucosemenge), in 10 ccm H_2O gelöst, zu 10 ccm Glucoselösung zugegeben, mit 40 ccm alkalischer Kupferlösung gemischt und die Analyse weiter nach Bertrand ausgeführt.

---

text von Professor Gabriel Bertrand: auf der S. 181 „Bereitung der Lösung III".

Anstatt:	Ferrisulfat	50 g
	Konzentrierte H_2SO_4	200 ccm
	Destilliertes Wasser zu 1 l	
muß es richtig heißen:	Ferrisulfat	50 g
	Konzentrierte H_2SO_4	200 g
	Destilliertes Wasser zu 1 l.	

Die Tabellen für 10 verschiedene Zuckerarten befinden sich in der Originalarbeit.

[1]) Bei 0,5 ‰ bis 5 ‰ kann die Analyse direkt ausgeführt werden, bei höherem Zuckergehalte stellt man sich durch Verdünnung eine passende Konzentration dar.

Die folgenden Versuchsprotokolle geben die Resultate an.

Untersuchte Körper		a	b		Differenz an Glucose	
Name	Gewicht	angewandte Glucose	gefundene Glucose			
			$KMnO_4$			
	mg	mg	ccm	mg	mg	%
Glykokoll	100	49,8	9,5	49,8	0	0
"	200	49,8	9,55	50,0	+ 0,2	+ 0,4
"	400	49,8	9,60	50,3	+ 0,5	+ 1,0
Alanin	200	50,3	9,55	50,0	− 0,3	− 0,6
"	400	50,3	9,5	49,8	− 0,5	− 1,0
Leucin	200	50,3	9,5	49,8	− 0,5	− 1,0
"	400	50,3	9,25	48,5	− 1,8	− 3,6
Tyrosin	20	50,3	9,6	50,3	0	0
"	50	50,3	9,65	50,8	+ 0,5	+ 1,0
Asparaginsäure	100	50,3	9,5	49,8	− 0,5	− 1,0
Asparagin	100	50,3	9,6	50,3	0	0
"	200	50,3	9,6	50,3	0	0
"	400	50,3	9,6	50,3	0	0
Betain	200	50,3	9,6	50,3	0	0
"	400	50,3	9,6	50,3	0	0
Glutaminchlorhydrat . .	100	50,3	9,5	49,8	− 0,5	− 1,0
Harnstoff	65	50,3	9,6	50,3	0	0
"	100	50,3	9,45	49,5	− 0,8	− 1,6
"	200	50,3	9,35	48,9	− 1,4	− 2,8
Pepton von Witte . . .	50	49,8	9,25	48,5	− 1,3	− 2,6
" " " . . .	50	49,8	9,35	49,0	− 0,8	− 1,6
" " " . . .	100	49,8	9,25	48,5	− 1,3	− 2,6
" " " . . .	100	49,8	9,25	48,5	− 1,3	− 2,6
Pepton von Chapoteaut .	50	50,3	9,6	50,3	0	0
" " " .	100	50,3	9,6	50,3	0	0
" " " .	150	50,3	9,2	48,1	− 2,2	− 4,4

Nach obigen Zahlen ist es klar, daß auch in dem oben genannten Falle die Bertrandsche Methode für die quantitative Glucosebestimmung als die zuverlässigste angenommen werden muß. Die Anwesenheit der genannten fremden Körper kommt dabei meist wenig in Betracht.

Da man die Analysen öfters in großen Serien ausführen muß (10 bis 20 Bestimmungen an einem Tage), so ist auch die kurze Dauer der Analyse (etwa 15 bis 20 Minuten) von großem Vorteil.

Es soll noch darauf hingewiesen werden, daß die Bestimmung bei beliebiger Beleuchtung ganz leicht ausgeführt werden kann. Die Farbe der analysierten Flüssigkeit spielt bei der Bertrandschen Methode keine Rolle, was indessen bei einigen anderen Methoden nicht der Fall ist.

Über die sog. Regeneration des künstlichen Komplements.

Von

M. Gramenitzky.

(Aus der bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses in Berlin.)

(Eingegangen am 17. Juli 1912.)

Im 40. Bande dieser Zeitschrift (Heft 3 u. 4) hat v. Fenyvessy Versuche mitgeteilt, aus denen hervorzugehen scheint, daß die beim Komplement von mir beobachtete „Regeneration nach Erwärmung“ sich auch bei den Gemischen nachweisen läßt, die v. Liebermann als „künstliche Komplemente“ bezeichnet.

v. Fenyvessy arbeitete mit einer Mischung von Ölsäure, Natronseife und Serumalbumin (Merck) und stellte fest, daß dieses Gemisch in einem Versuche nach 5 Minuten langer Erhitzung auf 56° in 56 Minuten, nach weiterem 3stündigen Stehen bei Zimmertemperatur aber schon in 40 Minuten eine bestimmte Blutkörperchenmenge zur Lösung brachte. Da die Versuchsbedingungen im wesentlichen die gleichen waren, wie ich sie bei der Regeneration des natürlichen Komplementes verwendet hatte, nimmt daher v. Fenyvessy an, daß auch sein „künstliches Komplement“ eine Regeneration erfahren habe.

Wir haben diesen Versuch Fenyvessys nachgeprüft und können seine Angabe insofern bestätigen, als auch in unseren Versuchen das Gemisch sofort nach der Erwärmung langsamer löste als einige Stunden später. Aber ein nur etwas tieferes Eindringen in diesen Vorgang hat uns sofort klar gezeigt, daß es sich hier um einen Vorgang handelt, der nicht als eine Regeneration bezeichnet werden kann. Das Fenyvessysche Gemisch zeigt nämlich die merkwürdige Eigenschaft, auch ohne jede Erwärmung bei einigem Stehen bei Zimmertemperatur an

hämolytischer Kraft zuzunehmen, und dieser Vorgang findet natürlich auch dann statt, wenn ich ihn durch eine 5 bis 10 Minuten lange Erwärmung unterbreche.

Es wird genügen, als Beispiel nur einige aus der Serie der von mir ausgeführten Experimente hier wiederzugeben.

Versuch 1.

Zusammensetzung des Komplements.

Natr. oleinic. 0,1 %	5 Teile
Ölsäureemulsion	3 „
Albuminlösung (Merck)	2 „
Physiol. NaCl-Lösung	10 „

Ein Teil der (filtrierten!) Lösung wurde im Erlenmeyerkolben 10 Minuten lang bei 56° erwärmt und dann bis auf Zimmertemperatur (20°) abgekühlt. Beobachtung bei Zimmertemperatur. Behufs größerer Genauigkeit wurden je 4 bis 5 Reagensgläschen genommen.

Auf 1 ccm 5%ige Rinderblutaufschwemmung 1,5 ccm Komplement.

A.

	Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement unmittelbar nach d. Abkühlung.
Nach 44 Min.	schwache Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 48 „	deutliche „	„ „
„ 50 „	fast totale „	Spuren.
„ 53 „	totale „	Schwache Hämolyse.
„ 60 „	„ „	Deutliche „
„ 66 „	„ „	Fast totale „
„ 68 „	„ „	Totale „

B.

Dieselben Lösungen nach 6stündigem Stehen.

	Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 28 Min.	schwache Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 30 „	deutliche „	„ „
„ 34 „	fast totale „	Spuren.
„ 35 „	totale „	„
„ 37 „	„ „	Deutliche Hämolyse.
„ 40 „	„ „	Fast totale „
„ 46 „	„ „	Totale „

Wenn wir als Ausgangspunkt für den Vergleich den Eintritt der vollständigen Hämolyse nehmen, so sehen wir, daß die hämolytische Kraft sowohl des erwärmten als des nicht erwärmten künstlichen Komplements innerhalb 6 Stunden im Verhältnis von 1,5 : 1 zugenommen hat. Wenn wir kein Kontrollexperiment mit nicht erwärmter Mischung gemacht hätten, wären wir in diesem Falle zu dem paradoxen Schlusse gelangt, daß das Gemisch nach Erwärmung und darauffolgendem Stehen intensiver hämolysierte (nach 46 Minuten) als vor der Erwärmung (53 Minuten).

Versuch 2.

Versuchsbedingungen analog. Zimmertemperatur 21°.

A.

Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 18 Min. schwache Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 23 „ totale „	Spuren.
„ 26 „ „ „	Deutliche Hämolyse.
„ 29 „ „ „	Totale Hämolyse.

B.

Dieselben Lösungen nach 2stündigem Stehen.

Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 14 Min. deutliche Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 19 „ totale „	Spuren.
„ 22 „ „ „	Deutliche Hämolyse.
„ 24 „ „ „	Totale Hämolyse.

C.

Dieselben Lösungen nach 3stündigem Stehen.

Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 13 Min. deutliche Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 16 „ totale „	Spuren.
„ 18 „ „ „	Deutliche Hämolyse.
„ 21 „ „ „	Totale Hämolyse.

Wenn wir, wie im Experiment Nr. 1, die relative Zunahme der hämolytischen Kraft vergleichen, so sehen wir, daß nach 2stündigem Stehen beide Gemische im Verhältnis von 1,2 : 1, nach 3 Stunden im Verhältnis von 1,4 : 1 stärker lösend geworden sind.

Versuch 3.

Hämolyse im auf 34° eingestellten Brutschrank. Das 10 Minuten lang bei 56° erwärmte künstliche Komplement wurde nach Abkühlung bis auf Zimmertemperatur (22°) in 3 Portionen geteilt, von denen die eine in Eiswasser versenkt, die andere bei Zimmertemperatur belassen, die dritte in den Brutschrank gebracht wurde. Nach 4stündigem Stehen wurden sämtliche Portionen bis auf Zimmertemperatur gebracht. Das nicht erwärmte Komplement stand gleichfalls bei Zimmertemperatur.

A.

Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 25 Min. deutliche Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 30 „ totale „	„ „
„ 35 „ „ „	Totale „

B.

Dieselben Lösungen nach 4 stündigem Stehen.

Nicht erwärmtes Komplement.	Erwärmtes Komplement.
Nach 20 Min. deutliche Hämolyse.	Keine Hämolyse.
„ 24 „ totale „	„ „ .
„ 26 „ „ „	Eisportion deutl. Hämolyse, Brutschrank- und Zimmerportion schwache Hämolyse.
„ 30 „ „ „	Überall totale Hämolyse.

Die während des 2 stündigen Stehens eingetretene Zunahme der hämolytischen Kraft zeigte sowohl für das erwärmte als auch für das nicht erwärmte Komplement (unabhängig von der späteren Temperatur) das Verhältnis von 1,2 : 1.

Nun wollen wir noch eins der Experimente mit nicht erwärmtem Komplement wiedergeben.

Versuch 4.

Künstliches Komplement: Natr. oleinic. 0,1% . . 5 Teile
Ölsäureemulsion . . . . 3 „
Albuminlösung . . . . 2 „
NaCl-Lösung . . . . . 5 „
Zimmertemperatur 23°.

A.

Unmittelbar nach der Zubereitung.

Nach 23 Min. Spuren.
„ 26 „ schwache Hämolyse.
„ 31 „ deutliche „
„ 38 „ fast totale „
„ 46 „ totale „

B.

Nach 2 Stunden.

Nach 18 Min. Spuren.
„ 22 „ deutliche Hämolyse.
„ 28 „ fast totale „
„ 36 „ totale „

C.

Nach 3 Stunden 20 Minuten.

Nach 16 Min. deutliche Hämolyse.
„ 28 „ totale „

Die Stärke des Komplements hat also nach 2 Stunden im Verhältnis von 1,3 : 1, nach 3 Stunden 20 Minuten im Verhältnis von 1,6 : 1 zugenommen.

Aus diesen Versuchen geht klar hervor, daß die sog. „Regeneration des künstlichen Komplementes“, die v. Fenyvessy mitteilt, nur eine scheinbare ist, und daß es sich dabei um einen Vorgang handelt, der mit dem Verhalten des natürlichen Komplementes nur eine äußere Ähnlichkeit besitzt. Denn natürliches Komplement verliert beim Stehen, ganz entgegengesetzt zu dem Fenyvessyschen Gemisch, progressiv seine Wirksamkeit; trotzdem zeigt es nach kürzerer Erwärmung das Vermögen, einen Teil seiner hämolytischen Kraft zurückzugewinnen.

Die Verstärkung der Hämolyse durch Fenyvessys Mischung tritt aber auch ohne jede vorherige Schädigung ein; man kann daher schlechterdings von einer „Regeneration“ nicht sprechen. Worauf diese Verstärkung beruht, wollen wir nicht entscheiden. Einige Versuche schienen dafür zu sprechen, daß die Kohlensäure der Luft vielleicht nicht ohne Einfluß ist, doch muß man wohl auch an eine Änderung des kolloidalen Zustandes des Gemisches denken.

Unsere Versuche rechtfertigen von neuem die von Fenyvessy angefochtene Behauptung, daß die Liebermannsche Komplementhypothese „lediglich auf mehr oder minder weitgehenden äußeren Analogien basiert“.

Über die Zerlegung von Brenztraubensäure durch tierische Organe.

Von

M. Tschernorutzky.

(Aus der chemischen Abteilung des tierphysiologischen Instituts der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 29. Juni 1912.)

Durch die Untersuchungen Neubergs und seiner Mitarbeiter ist der Nachweis erbracht, daß es Substanzen gibt, die, ohne zu den eigentlichen Zuckern zu gehören, durch Hefe vergoren werden. Diese Erscheinung, die für das Verständnis des intermediären Kohlenhydratstoffwechsels von größter Bedeutung ist, wurde bisher am eingehendsten[1]) an der Brenztraubensäure studiert. Durch ober- und untergärige Hefen, durch Hefepreß- und Macerationssaft sowie durch Acetondauerhefen wird diese Säure in Kohlendioxyd und Acetaldehyd gespalten. Insbesondere haben Neuberg und Karczag gezeigt, daß das aus Brenztraubensäure CO_2 abspaltende Ferment, die Carboxylase, hinsichtlich Schnelligkeit der Wirkung und Verbreitung in den Hefen durchaus der Zymase folgt. Zur Prüfung der alsbald ausgesprochenen Frage, ob die Brenztraubensäuregärung ein Teilvorgang der ja im letzten Wesen noch gänzlich unaufgeklärten Zuckervergärung sei, haben Neuberg und Kerb[2]) dann versucht, die Brenztraubensäuregärung so zu leiten, daß statt Acetaldehyd ($CH_3.COH$) Äthylalkohol

---

[1]) C. Neuberg und Mitarbeiter, Über zuckerfreie Hefegärungen. Diese Zeitschr. **31**, 170, 1911; **32**, 323, 1911; **36**, 60, 68, 76, 1911; **37**, 170, 1911; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **44**, 2477, 1911.

[2]) C. Neuberg und J. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 114, 1912.

($CH_3.CH_2OH$) entsteht. Das ist in der Tat bei Gegenwart von Glycerin möglich gewesen.

Die offensichtliche Bedeutung der Brenztraubensäure für den Gärungsvorgang und ihre Beziehung zu den Zuckerarten legte es nahe, ihr Verhalten im Tierkörper und ihre Beziehung zum tierischen Zuckerstoffwechsel zu prüfen.

Die erste diesbezügliche Untersuchung hat im hiesigen Institut Paul Mayer[1]) angestellt. Er fand sofort innige Beziehungen der Brenztraubensäure zur Zuckerbildung.

P. Mayer sah bei normal ernährten Kaninchen nach Verabfolgung von Brenztraubensäure (als Natriumsalz) stets Hyperglykämie sowie Zuckerausscheidung; er konstatierte ferner beim Hungertier reichliche Glykogenbildung und beobachtete ein Übertreten von Milchsäure in den Harn.

Zur Klärung der Rolle von Brenztraubensäure im Tierkörper schienen nun Versuche über das Verhalten einzelner Organe zu dieser Säure von Wichtigkeit. Wegen der Beziehungen zum Zuckerstoffwechsel wählte ich zunächst Leber und Muskeln.

Die erste Frage, die zu beantworten war, ist folgende:

Können Organe Brenztraubensäure überhaupt angreifen?

Die im folgenden tabellarisch aufgeführte Anzahl von Versuchen zeigt, daß in der Tat sowohl Leber wie Muskel freie Brenztraubensäure und brenztraubensaures Natrium reichlich angreifen. Ein prinzipieller Unterschied zwischen freier Säure und Natriumsalz besteht nicht. Beim Hund ist das Zerstörungsvermögen der Organe etwas größer als beim Kaninchen und erreicht in einzelnen Versuchen 100%.

Man kann diesen Vorgang der Brenztraubensäurezerstörung mit dem der sog. Glykolyse vergleichen.

Vorläufig ist nicht festgestellt, was aus der Brenztraubensäure bei der Umwandlung durch Organe wird. Außer CO_2 entstehen flüchtige, auch bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion übergehende Produkte. Letztere reduzieren deutlich sowohl alkalisch-ammoniakalische Silberlösung wie Fehlingsche Mischung, geben Jodoformreaktion usw. Acetaldehyd habe ich bisher nicht nachweisen können, doch muß man nach den bei

[1]) P. Mayer, diese Zeitschr. 40, 441, 1912.

den Brenztraubensäuregärungen gemachten Erfahrungen an Alkohol sowie Aldol[1]) denken. Ferner kommen Umwandlungen in Acetonkörper sowie Milchsäure, ferner ein Übergang in Alanin [Embden[2])] in Betracht. Schon heute möchte ich erwähnen, daß ich in einzelnen Versuchen mit brenztraubensaurem Natrium alkalische Reaktion auftreten sah, die auf Entstehung von Alkalicarbonat zu beziehen ist. Die bei antiseptischer Aufbewahrung von Organen einsetzende Säurebildung verdeckt jedoch zum Teil die aus der Zerlegung des brenztraubensauren Natriums resultierende Alkalinität.

Im einzelnen sind die Versuche folgendermaßen angestellt.

Zur Verwendung gelangte stets eine 1°/₀ige Lösung von freier Brenztraubensäure; die Lösung des brenztraubensauren Natriums enthielt stets im Liter 10 g Brenztraubensäure, die mit Natriumcarbonat genau neutralisiert waren.

Je 100 ccm dieser Lösungen wurden mit wechselnden Quantitäten des lebenswarm entnommenen und sofort zerkleinerten Organs versetzt. Die Organmengen schwankten zwischen 10 und 30 g. Es hat sich herausgestellt, daß 10 g pro 100 ccm Lösung die zweckmäßigste Quantität darstellt.

Das Gemisch von Organ mit den Brenztraubensäurelösungen wurde ohne Verdünnung mit Wasser, wohl aber nach Zugabe von reichlich Chloroform oder Toluol in verschlossener Flasche 4 bis 7 Tage lang bei 38° aufbewahrt. Während dieser Zeit wurde wegen des meist starken Kohlensäuredrucks öfters der Stopfen gelüftet. Es empfiehlt sich die Anwendung dickwandiger Gefäße, da gewöhnliche Erlenmeyerkolben mehrmals zertrümmert wurden.

Die Bestimmungen der Brenztraubensäure geschah in Anlehnung an die Methodik von Neuberg und Karczag[3]) durch Fällung mit essigsaurem-alkoholischen p-Nitrophenylhydrazin in einem aliquoten Teile des zuvor mit kolloidalem Eisenhydroxyd enteiweißten und zugleich geklärten Digestionsgemisches.

Kontrollbestimmungen zeigten mir, daß man in der Mischung von Organbrei und Brenztraubensäurelösung nach

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 43, 491, 1912.
[2]) G. Embden und Schmitz, diese Zeitschr. 38, 393, 1912.
[3]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 62, 1911.

A. Versuche mit Brenztraubensäure.

Tier	Organ g	Versuchsdauer Std.	In 25 ccm Filtrat angew. Menge Brenztraubensäure g	In 25 ccm Filtrat gefund. Menge Brenztraubensäure g	Differenz g	Abnahme %
Kaninchen	Leber 30	96	0,192	0,134	0,058	30,2
„	20	96	0,200	0,160	0,040	20,0
„	10	120	0,233	0,157	0,076	32,6
„	Muskeln 10	96	0,208	0,153	0,055	26,4
„	10	120	0,233	0,165	0,068	29,1
Hund	Leber 30	168	0,192	0,109	0,083	43,2
„	30	168	0,188	0,153	0,035	18,6
„	10	120	0,231	0,161	0,070	30,3
„	Muskeln 10	168	0,223	0,153	0,070	31,3
„	10	168	0,196	0,126	0,070	35,7
„	10	120	0,231	0,178	0,053	22,9

B. Versuche mit brenztraubensaurem Natrium.

Tier	Organ g	Versuchsdauer Std.	In 25 ccm Filtrat angew. Menge brenztraubensaures Na g	In 25 ccm Filtrat gefund. Menge brenztraubensaures Na g	Differenz g	Abnahme %
Kaninchen	Leber 30	96	0,192	0,118	0,074	38,5
„	20	96	0,200	0,114	0,086	43,0
„	10	120	0,235	0,165	0,070	29,7
„	Muskeln 10	96	0,208	0,177	0,031	14,9
„	10	120	0,235	0,170	0,065	27,6
„	10	120	0,227	0,162	0,065	28,6
Hund	Leber 30	168	0,192	0	0,192	100,0
„	10	120	0,235	0,130	0,105	45,1
„	10	120	0,227	0,106	0,121	53,3
„	Muskeln 10	168	0,223	0	0,223	100,0
„	10	168	0,196	0	0,196	100,0
„	10	120	0,238	0,130	0,108	45,3
„	10	120	0,227	0,094	0,133	58,3

sofortiger Behandlung mit Ferrihydroxyd die angewandte Menge Brenztraubensäure[1]) fast genau wiederfindet.

Weiter überzeugte ich mich davon, daß Brenztraubensäure in 1⁰/₀iger Lösung sich bei 38⁰ in 15 Tagen überhaupt nicht verändert, während der Gehalt des ebenso aufbewahrten Natriumsalzes an Brenztraubensäure noch 92⁰/₀ betrug.

Der Schmelzpunkt des zur Wägung gebrachten Brenztraubensäure-p-nitrophenylhydrazons schwankte zwischen 208 und 212⁰, lehrte also, daß die Verbindung recht rein war.

Dieses außerordentlich beträchtliche Zerstörungsvermögen der Organe für Brenztraubensäure und ihr Natriumsalz deutet auf eine Rolle dieser Substanz auch im Stoffwechsel des Tieres. Die Beziehungen der Brenztraubensäure zu den Zuckern, die sich in der Vergärbarkeit enthüllen, und zum Eiweiß, die in den Verknüpfungen mit Cystin, Serin und Alanin zum Ausdruck gelangen, sind nach den verschiedensten Richtungen noch zu klären. Erinnert sei in diesem Zusammenhange auch an die Befunde von Ehrlich[2]) sowie Rona[3]), die Brenztraubensäure als Kohlenstoff- und Energiequelle für Kahm- und Kulturhefen sowie für die Arbeit der Darmmuskulatur dem Traubenzucker gleichwertig fanden.

---

[1]) 223 g Brenztraubensäure-p-nitrophenylhydrazon entsprachen 88 g Brenztraubensäure.

[2]) F. Ehrlich, diese Zeitschr. 36, 496, 1911.

[3]) P. Rona, Verhdl. d. physiol. Ges. Berlin 1912.

Über zuckerfreie Hefegärungen. VII.

Bildung von β-Oxybuttersäurealdehyd (Aldol) bei der Vergärung von Brenztraubensäure.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des tierphysiologischen Instituts der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Nach früheren Versuchen von Neuberg und Karczag[1]) verläuft die Vergärung der freien Brenztraubensäure durch Hefe einfach in der Weise, daß unter Abspaltung von Kohlendioxyd Acetaldehyd gebildet wird:

$$CH_3.CO.COOH = CO_2 + CH_3.COH.$$

Verwendet man brenztraubensaure Salze, insbesondere das Kaliumsalz, so vollzieht sich der Gärungsvorgang prinzipiell in gleicher Weise:

$$2\,CH_3.CO.COOK + H_2O = 2\,CH_3.CHO + K_2CO_3 + CO_2.$$

Auch hier erfolgt die Abspaltung von Aldehyd, doch erfährt letzterer, wie schon früher mehrfach betont ist[2]), eine Umwandlung bei der alkalischen Reaktion, die zu Aldol führt.

$$CH_3.CHO + CH_3.CHO = CH_3.CHOH.CH_2.CHO.$$

Es war nun von Wichtigkeit, festzustellen, ob der auftretende β-Oxybuttersäurealdehyd lediglich dem bei der Vergärung frei werdenden Alkalicarbonat seine Entstehung verdankt oder ob die Hefe als Organismus an seiner Bildung mit beteiligt ist. Im letzteren Falle dürfte man das Auftreten von optischaktivem β-Oxybuttersäurealdehyd erwarten.

---

[1]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. **36**, 68, 1911.

[2]) C. Neuberg und L. Karczag, l. c.; C. Neuberg und S. Kurz, Sitzungsber. d. Berl. physiol. Ges. 1. März **1912**.

Eine Entscheidung versuchte ich durch einen Gärversuch mit einer größeren Menge brenztraubensauren Kaliums herbeizuführen.

88 g Brenztraubensäure wurden durch genaue Neutralisation mit verdünnter Kalilauge in das Kaliumsalz verwandelt. Die auf 8800 ccm verdünnte Lösung wurde mit 200 g Reinzuchthefe D[1]) bei 28° 3 Tage lang vergoren. Durch Abhebern wurden 5640 ccm und durch Filtrieren 870 ccm Flüssigkeit erhalten, die deutlich alkalisch reagierte. Das gesammelte Gärgut wurde mit Salzsäure genau neutralisiert und dann unter vermindertem Druck auf 200 ccm eingeengt. Das Destillat enthielt deutlich Acetaldehyd. Der Kolbeninhalt wurde nochmals filtriert und nun[2]) nach Zugabe von etwas festem Kaliumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaktion (zwecks Bindung von unveränderter Brenztraubensäure) und nach Sättigung mit Kochsalz[3]) erschöpfend mit Äther extrahiert. Der über geglühtem Glaubersalz getrocknete Ätherauszug hinterließ beim Verdampfen ein dickes bräunliches Liquidum, in dem sich die Anwesenheit von Aldol durch die reduzierenden Eigenschaften verriet. Der Ätherabdampfrückstand wurde alsdann aus einem kleinen Destillationskölbchen übergetrieben. Der bei 21 mm zwischen 70° und 105° übergehende Anteil betrug 4,3 g. Er war ein schwach gelblicher zäher Sirup von charakteristischem Geruch und schwach brennendem Geschmack. Mit p-Bromphenylhydrazin in alkoholisch-wässeriger Lösung schied sich ein Hydrazon ab. Trotz seines schönen Aussehens war dasselbe nicht einheitlich und auch durch Umkrystallisieren nicht analysenrein zu erhalten.

Zur Charakterisierung des Aldols wurde dieses deshalb unter Benutzung der von Beilstein[4]) gemachten Angabe mit Silberoxyd zu β-Oxybuttersäure oxydiert.

---

[1]) Für Überlassung von Hefe bin ich dem Institut für Gärungsgewebe in Berlin dauernd zu Dank verpflichtet.

[2]) Das Eindampfen geschah bei neutraler Reaktion, dabei verflüchtigt sich einerseits sämtlicher Acetaldehyd und wird andererseits eine nachträgliche Aldolkondensation vermieden.

[3]) Nach Claisen (Ann. **306**, 323) läßt sich Aldol aus NaCl-gesättigter Lösung leichter als aus wässeriger extrahieren.

[4]) Beilstein, **1**, 964, 1893.

3 g des Sirups wurden in 150 ccm Wasser gelöst und mit der aus 16 g festem $AgNO_3$ bereiteten Menge Siberoxyd zunächst $^1/_2$ Stunde in der Kälte geschüttelt und dann noch 1 Stunde am Rückflußkühler gekocht. Die filtrierte Flüssigkeit war zunächst fast farblos, schied aber beim Einengen wiederum metallisches Silber aus. Nach erneuter Filtration bildeten sich beim Eindampfen schwach gefärbte Krusten eines Silbersalzes, das abgepreßt und von neuem in kaltem Wasser gelöst wurde. Neben metallischem Silber blieb etwas schwerlösliches Silbersalz (Ag-Acetat?) zurück. Da sich die klare Lösung beim Einengen stets wieder schwärzte, wurde sie bei gewöhnlicher Temperatur im Dunkelexsiccator über konzentrierter H_2SO_4 bei Zimmertemperatur verdunstet. Auf diese Weise wurden 1,9 g eines fast rein weißen Silbersalzes gewonnen, das nach der Analyse und nach Reaktionen[1]) das β-Oxybutyrat war.

0,1061 g Substanz gaben 0,0539 g Ag,

$C_4H_7O_3Ag$: ber. Ag = 51,19; gef. Ag = 50,80%.

Sowohl die wässerige Lösung des Silbersalzes wie die der daraus dargestellten freien Säure waren optisch völlig inaktiv.

Es muß dahingestellt bleiben, ob etwa bei der Vakuumdestillation des rohen Aldols oder bei dessen Oxydation mit Ag_2O eine Racemisierung eingetreten ist.

Auf alle Fälle ist die hiermit erwiesene Beziehung der zur 3-Kohlenstoffreihe gehörigen Brenztraubensäure

$$CH_3.CO.COOH$$

zur β-Oxybuttersäure

$$CH_3.CHOH.CH_2.COOH,$$

die 4 C-Atome besitzt, nicht ohne Interesse.

---

[1]) Die durch H_2S freigemachte Säure gab in ausgezeichneter Weise die Blacksche Reaktion und lieferte mit $K_2Cr_2O_7$ und verdünnter H_2SO_4 (Minkowski, Külz) Aceton.

Über zuckerfreie Hefegärungen. VIII.

Entstehung von Acetaldehyd bei der sog. Selbstgärung.

Von

C. Neuberg und J. Kerb.

(Aus der chemischen Abteilung des tierphysiologischen Instituts der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

Die Tatsache der leichten und schnellen Vergärbarkeit der Brenztraubensäure, die Verbreitung des die Brenztraubensäure angreifenden Gärungsfermentes, der Carboxylase, in allen darauf untersuchten Heferassen, sowie der Umstand, daß Carboxylase und Zymase stets vergesellschaftet sind, hat uns alsbald zu der Auffassung geführt[1]), daß die Brenztraubensäuregärung nicht einem „Zufallsenzym" der Hefen zuzuschreiben ist, sondern mit der eigentlichen Zuckervergärung im Zusammenhange steht.

Da nun bei der sog. Selbstgärung von Hefen Alkohol gebildet wird, war es von Interesse festzustellen, ob auch bei dieser Selbstgärung Acetaldehyd, das typische Produkt der Brenztraubensäuregärung, auftritt.

In der Reaktion von Rimini (Blaufärbung auf Zusatz von wenig Nitroprussidnatrium und Diäthylamin) hat man eine sehr scharfe und eindeutige Probe auf Acetaldehyd, die besonders auch die Erkennung derselben neben Alkohol gestattet.

Wie früher angegeben[2]), fällt diese Reaktion im Gärgut der Brenztraubensäure, bzw. in dessen Destillaten enorm aus.

---

[1]) Vgl. C. Neuberg und J. Kerb, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 1, 114, 1912.

[2]) C. Neuberg und L. Karczag, Ber. d. Deutch. chem. Ges. 44, 2477, 1911.

Die Menge des Alkohols, den man bei der Selbstgärung erhält, schwankt bekanntlich erheblich; er stammt wohl im wesentlichen aus verzuckertem Glykogen, dessen Menge wiederum vom Ernährungszustande der Hefe abhängig ist.

In der Tat kann man bei der Selbstgärung von Hefe fast stets auch Acetaldehyd nachweisen. Die Menge desselben findet man in den einzelnen Versuchen jedoch recht ungleich.

Wir verfuhren zum Nachweise so, daß wir die betreffende Hefe mit der 10fachen Menge Wasser und mit 1°/₀ der Flüssigkeitsmenge an Toluol versetzten. Nach 2 bis 3tägigem Stehen bei 28° oder auch bei Zimmertemperatur wurde $^1/_3$ des Gärguts unter Kühlung mit Eis abdestilliert, das Destillat im Scheidetrichter vom Toluol getrennt und dann nochmals rektifiziert. Hierbei wurde wieder nur $^1/_3$ des Volumens übergetrieben und in eisgekühlter Vorlage aufgefangen. In diesem Destillate fiel dann die Acetaldehydreaktion positiv aus, aber mit sehr verschiedener Stärke.

Eine Aufführung dieser Versuche im einzelnen erübrigt sich. (Vgl. Versuch I und II.)

Von einer quantitativen Bestimmung auf jodometrischem oder ähnlichem Wege mußten wir Abstand nehmen, da eine quantitative Abtrennung solch kleiner Aldehydmengen von Alkohol (und ev. anderen flüchtigen Gärprodukten) unmöglich ist.

Auch mit Hefedauerpräparaten erhält man das gleiche Resultat, so mit Hefanol. Auf die mit diesem Material angestellten Versuche gehen wir ausführlicher ein in Rücksicht auf die inzwischen gemachten Angaben von S. Kostytschew[1]). Dieser Autor hat in Anlehnung an unsere Versuche über die Brenztraubensäuregärung die Anschauung entwickelt, daß der Vorgang der Zuckergärung folgendermaßen aufzulösen sei:

α) $C_6H_{12}O_6 = 2\,CH_3.CO.COOH + 2\,H_2$.
β) $CH_3.CO.COOH = CO_2 + CH_3.COH$.
γ) $CH_3.COH + H_2 = CH_3.CH_2OH$.

Dabei nimmt Kostytschew an, daß der Wasserstoff (α) nicht frei auftritt, sondern zunächst an Reduktasen gebunden wird.

[1]) S. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 79, 130, 1912; S. Kostytschew und H. Hübbenet, ebenda 79, 359, 1912.

Dieses Kostytschewsche Schema hat den Vorzug, eine Beteiligung der Ameisensäure am Gärungsvorgange entbehrlich zu machen, für deren Mitwirkung wir in erneuten Versuchen[1]) keinen Anhalt finden konnten und die als Zwischenprodukt der normalen Gärung auch in jüngster Zeit von Buchner und Meisenheimer[2]) abgelehnt wird.

Allein der Beweis, den Kostytschew für das intermediäre Auftreten von Acetaldehyd bei der normalen Zuckergärung angibt, können wir nicht für überzeugend halten. Er läßt die Gärung in Gegenwart von Zinkchlorid ($ZnCl_2$) vor sich gehen und macht dabei die Annahme, daß der Acetaldehyd durch das Chlorzink polymerisiert und vor der Reduktion zu Äthylalkohol geschützt werde.

Die Rolle des Zinkchlorids in Kostytschews Versuchen ist nicht recht klar. Denn wenn dasselbe die vom Autor gewünschte Kondensationswirkung entfalten würde, so ist es unverständlich, wieso bei einfacher Destillation des Gärgutes dann monomolekularer Acetaldehyd übergeht.

Denn wenn $ZnCl_2$ polymerisierend auf Acetaldehyd wirkt, so entstehen Paraldehyd, Aldol und ev. Crotonaldehyd, die jedoch sämtlich durch einfache Destillation ihrer wässerigen Lösungen nicht in Acetaldehyd zurückverwandelt werden.

Auffallend ist auch die Angabe[3]), daß bei 32° die Aldehydbildung ausbleibt und nur bei Zimmertemperatur eintritt. Die Zuckervergärung geht doch bei 32° glatt vor sich, und es müßte, falls wirklich $ZnCl_2$ den als Zwischenprodukt gebildeten Aldehyd abfangen würde, auch bei 32° reichlich Acetaldehyd nachweisbar sein, da der Autor einem Verlust etwa durch Abdunsten vorgebeugt hat.

Da wir nun bei der Selbstgärung von Hefen und Hefentrockenpräparaten Acetaldehyd haben nachweisen können — einerlei ob die Digestion bei 28° oder 37° vorgenommen war —, so haben wir die Kostytschewschen Versuche wiederholt.

Bezüglich der Mengen haben wir uns durchaus an seine Angaben gehalten, sind nur insofern abgewichen, als wir statt

---

[1]) C. Neuberg und J. Kerb, l. c.

[2]) E. Buchner und J. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 45, 1642, 1912.

[3]) S. Kostytschew, l. c., S. 140.

Traubenzucker den leichter rein erhältlichen Rohrzucker verwendeten.

Die objektive Richtigkeit seiner Angaben können wir durchaus bestätigen, sie stehen mit unsern zuvor mitgeteilten Ergebnissen in gutem Einklange. Allein wir möchten ihnen eine andere Deutung geben, namentlich aber können wir — gerade auf Grund der ohne Zuckerzusatz angestellten Selbstgärungsversuche — die Auffassung nicht teilen, daß die Abstammung des Acetaldehyds aus dem Zucker bewiesen sei.

Führt man nämlich die Versuche in der Weise aus, daß man den Zucker fortläßt, d. h. lediglich Hefanol, Wasser, Toluol und Chlorzink zusammen digeriert, so findet man in dem zum Drittel abdestillierten und dann nach Abtrennung vom Toluol im Scheidetrichter abermals auf ein Drittel konzentrierten Destillat ziemlich reichlich Acetaldehyd (Versuch III und IV).

Ersetzt man den Zucker durch Äthylalkohol, so gelangt man zum gleichen Resultat, ja wir konnten einmal in einem Alkoholversuch (Versuch V und VI) genau so viel Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon isolieren, wie Kostytschew in einem Gärversuche mit Traubenzucker.

Wir haben uns davon überzeugt, daß Alkohol allein beim Stehen mit Chlorzink und Toluol keinen Acetaldehyd liefert (Versuch VII, α und β). Auch mit gekochtem Hefanol liefert Äthylalkohol keinen Aldehyd (Versuch VIII), so daß etwa eine katalytische Oxydation durch das fein verteilte Hefanolpulver auszuschließen ist.

An sich bliebe die Möglichkeit bestehen, daß in den ohne Zuckerzusatz angestellten Gärproben der Aldehyd aus den Kohlenhydraten des Hefanols entstünde. Der Umstand jedoch, daß wir bei den Versuchen mit Zuckerzusatz nicht entsprechend mehr Acetaldehyd gefunden haben, spricht gegen diese Deutung und überhaupt gegen die Herkunft aus Zucker. Wahrscheinlicher ist die Annahme, daß bei der Selbstgärung, die doch nichts als eine Autolyse der Hefenpräparate ist, Acetaldehyd liefernde Stoffe auftreten und daß Alhohol wie Chlorzink[1]) ihre

[1]) Die kondensierende Wirkung der $ZnCl_2$ ist bei Gegenwart von Hefe (Bindung des Zinksalzes durch Hefeeiweiß) offenbar nicht groß; denn falls Polymerisation einträte, würde man ja im Destillat keinen Acetaldehyd finden können.

Bildung irgendwie begünstigen[1]). Man muß daran denken, daß aus bestimmten Monoaminosäuren Brenztraubensäure, aus Asparaginsäure Oxalessigsäure entstehen können, die dann durch Carboxylase in bekannter Weise zu Acetaldehyd vergoren werden. Für diese Quantitäten Acetaldehyd, denen wohl die bei normalen Gärungen beobachteten Aldehydmengen entsprechen, ist jedenfalls die Natur als intermediäres Produkt der Hexosengärung nicht bewiesen.

Die ungleiche Wirksamkeit verschiedener Hefanolpräparate in bezug auf die Aldehydausbeuten, die Kostytschew erwähnt, haben auch wir beobachten können.

Wir möchten noch des merkwürdigen Umstandes gedenken, daß in manchen Fällen die Destillate bei der Prüfung auf Acetaldehyd schon nach Zusatz allein von Nitroprussidnatriumlösung einen schwachen bläulich-violetten Farbenton annehmen, d. h. ohne besonderer Zugabe eines sekundären Amins (wie Diäthylamin). Zu erklären ist dieses Verhalten wohl durch die Tatsache, daß Hefanol ja nicht steril ist und daß beigemengte Pilze oder Bakterien Anlaß zur Entstehung eines sekundären Amins geben.

Auszug aus den Protokollen.

I.

200 g Preßhefe, 2000 ccm Wasser und 10 g Toluol wurden 3 Tage bei 37° im Brutschrank digeriert. Dann wurden 600 ccm abdestilliert, von diesen abermals 200 ccm und davon schließlich 60 ccm übergetrieben. Alle Destillationen wurden unter Eiskühlung vorgennmmen. Im Enddestillat war Acetaldehyd mit Nitroprussidnatrium und durch Reduktion von ammoniakalisch-alkalischer Silberlösung nachweisbar.

II.

200 g Preßhefe, 2000 ccm Wasser, 10 g Toluol und 5 g Chlorzink wurden genau wie Versuch I digeriert und rektifiziert. Die Reaktionen auf Acetaldehyd fielen noch stärker positiv aus.

III.

10 g Hefanol, 50 ccm Wasser, 0,25 g $ZnCl_2$ und 0,5 ccm Toluol wurden 4 Tage bei 28° stehen gelassen. In dem rektifizierten Destillat fiel die Aldehydreaktion mit Nitroprussid-

---

[1]) Auch bei Selbstgärung von frischer Hefe (ohne Zuckerzusatz) ist in den $ZnCl_2$-haltigen Proben die Aldehydausbeute meist etwas größer als in den zinksalzfreien Ansätzen.

natrium und Diäthylamin sowie die Reduktion einer alkalisch-ammoniakalischen Silbermischung stark aus.

IV.

100 g Hefanol, 500 ccm H_2O, 2,5 g $ZnCl_2$ und 5 g Toluol wurden 4 Tage in starkwandiger, verschlossener Flasche im Thermostaten belassen. Das Gefäß wurde nach Abkühlung durch kaltes Wasser geöffnet, der Inhalt in der erwähnten Weise destilliert und rektifiziert. Die Aldehydreaktionen fielen äußerst stark aus. Mit p-Nitrophenylhydrazin wurden 0,1 g Niederschlag erhalten. Das Hydrazon schmolz nach einmaligem Umkrystallisieren bei 127°. (Reines Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon schmilzt bei 128,5°.)

V.

10 g Hefanol, 50 ccm H_2O, 5 g abs. Äthylalkohol, 0,25 g $ZnCl_2$ und 0,5 ccm Toluol lieferten nach 4 tägiger Digestion im Brutschrank ein Destillat, das intensive Reaktionen auf Acetaldehyd ergab.

VI.

100 g Hefanol, 500 ccm H_2O, 50 g abs. Alkohol, 2,5 g $ZnCl_2$ und 5 ccm Toluol lieferten nach 4 tägigem Verweilen im Thermostaten ein stark aldehydhaltiges Destillat, aus dem 0,45 g Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon (Schmelzpunkt 127°) abgeschieden werden konnten.

VII.

α) 1 l 10%iger Alkohol wurde mit 5 g $ZnCl_2$ und 10 ccm Toluol 4 Tage im Thermostaten belassen. Das zweimal rektifizierte Destillat gab keine Spur einer Reaktion auf Acetaldehyd.

β) Das gleiche negative Ergebnis wurde in einem Versuch mit 1000 ccm 1%igen Alkohols erzielt.

VIII.

100 g Hefanol wurden mit 500 ccm Wasser 1 Stunde auf 100° erhitzt. Durch nachträgliche Digestion unter Zusatz von Toluol und Chlorzink und folgende Rektifikation wurde ein Destillat gewonnen, an dem nur die Andeutung einer Aldehydreaktion beobachtet werden konnte.

Kleinere Mitteilungen verschiedenen Inhalts.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des tierphysiologischen Instituts der Kgl. landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

1.

Über die Jodoformreaktion der Milchsäure.

In verschiedenen Lehrbüchern — auch in der neuesten Auflage von Hupperts Harnanalyse[1]) — findet sich die Angabe, daß die Fleischmilchsäure (d-Milchsäure) zum Unterschied von der gewöhnlichen inaktiven Milchsäure mit Jod und Kalilauge kein Jodoform ergebe.

Eine derartige Differenz im chemischen Verhalten von Racemform und einem optischen Antipoden war im höchsten Grade unwahrscheinlich. Die Nachprüfung ergab denn auch die Irrigkeit obiger Angabe.

Löst man etwas reines d-Zinklactat (aus Fleischextrakt) in Kalilauge, so erhält man ohne weiteres positiven Ausfall der Jodoformprobe auf Jodzusatz. Ganz ebenso verhält sich freie d-Milchsäure, die aus dem Zinksalz durch Schwefelwasserstoff dargestellt ist.

Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, daß einige andere Substanzen, die in letzter Zeit öfter physiologisches Interesse erregt haben, gleichfalls mit Jod und Kalilauge „Jodoformreaktion" geben. Es sind dieses Brenztraubensäure, Aldol, β-Oxybuttersäure, Quercit und Inosit. Man erhält auf Zusatz von Jod und Lauge und ev. nach gelindem Erwärmen einen gelben, charakteristisch riechenden Niederschlag. Es muß frei-

[1]) Neubauer-Huppert's Analyse des Harns, S. 227, 1910.

lich dahingestellt bleiben, ob es sich stets um typisches Jodoform (CHJ_3) handelt oder um homologe Verbindungen bzw. um Substitutionsprodukte. Besonders beachtenswert erscheint die Reaktion der zyklischen Substanzen Inosit und Quercit.

2.

Darstellung von d-Glucosamin.

Für die präparative Gewinnung von d-Glucosaminchlorhydrat wird für gewöhnlich empfohlen, die gut entkalkten Hummerschalen in einem Glas- oder Porzellangefäß auf freiem Feuer zum Sieden zu erhitzen.

Diese Operation ist wegen der Gefahr des Springens bei Arbeiten mit größeren Mengen lästig.

Ebenso gute Resultate erhält man nun beim Erhitzen der mit konz. Salzsäure und gut entkalkten Hummerschalen beschickten Glaskolben einfach im siedenden Wasserbade. Sobald Lösung erfolgt ist, entleert man den Kolbeninhalt in eine Schale und dampft auf dem Wasserbade fast völlig ein. Verrührt man die abgeschiedenen Krystalle nach 24 stündigem Stehen mit Alkohol, so kann man auf gewöhnlichem Filter absaugen. Durch Nachwaschen mit Alkohol entfernt man sehr viel der dunklen Verunreinigungen. Es hinterbleibt eine meist nur leicht grau gefärbte Krystallmasse, die durch einmalige Umkrystallisation unter Zugabe von Knochenkohle reines Glucosaminchlorhydrat liefert. Hat man vor dem Absaugen Alkohol zugefügt, so lohnt eine Verarbeitung der Mutterlaugen nicht. Die Ausbeute beträgt dabei 30 g HCl-Glucosamin aus 50 g lufttrockenen, entkalkten Hummerschalen.

Genau die gleiche Quantität erhält man beim Kochen, das aber, wie gesagt, nicht erforderlich ist. Offenbar erfolgt die Hydrolyse des Chitins viel leichter als etwa die von Proteinen oder Cellulose.

3.

Polarimetrische oder reduktionsanalytische Bestimmung von Zucker?

In letzter Zeit ist wiederholt die Frage diskutiert, ob es zweckmäßiger ist in Naturstoffen vorhandene Kohlenhydrate mit dem Polarisationsapparat oder nach einer der Reduktions-

methoden — titrimetrisch oder gewichtsanalytisch — zu bestimmen.

Abgesehen davon, daß es im Interesse einer exakten Analytik liegt, verschiedene, auf ungleiche Grundlage beruhende und einander kontrollierende Verfahren zu besitzen, scheint es prinzipiell unrichtig, obige Kabinettsfrage zu stellen. Denn eine generelle Entscheidung ist unmöglich. Die Wahl der Methode hat sich nach dem zu analysierendem Material zu richten.

1. Hat man z. B. zwei verschiedene reduzierende Zucker nebeneinander, so ist außer einer Bestimmung des Reduktionsvermögens eine Ermittlung der Drehung oft der einzige Weg, um den Gehalt an beiden Kohlenhydraten festzustellen.

2. Handelt es sich um die Bestimmung an sich nicht reduzierender Zucker, so ist bei einfachen Sacchariden eine Reduktionsbestimmung nach voraufgegangener Hydrolyse wohl möglich. Bei komplizierten Kohlenhydraten ist oft jedoch die hydrolytische Spaltung nicht ohne partielle Zerstörung eines Teiles der gebildeten Zucker zu Ende zu führen.

3. Bei der Bestimmung des Zuckergehaltes von Glucosiden nach Reduktionsmethoden stößt man auf eine doppelte Schwierigkeit. Ein Teil der Glucoside setzt der totalen Hydrolyse beträchtlichen Widerstand entgegen, ein anderer liefert bei der Spaltung neben Zucker fremde reduzierende Substanzen, wie Aldehyde, Polyphenole, Chinone. Diese scheiden aus Fehlingscher Mischung oder entsprechenden Flüssigkeiten Oxydul (bzw. Metall) aus und führen so zu ganz unbrauchbaren Resultaten.

4. Besteht die Aufgabe in einer Bestimmung des Zuckers unter den Spaltungsprodukten einer Nucleinsäure oder in purinhaltigen Lösungen überhaupt, so mischt sich bei Bestimmung durch Reduktion Purin-Kupferoxydulverbindung dem Kupferoxydul bei.

5. Die vollständige Hydrolyse von Glucoproteiden führt zu Gemischen, in denen die Kohlenhydrate nicht ohne weiteres nach Reduktionsmethoden bestimmt werden können. Denn die große Menge vorhandener Aminosäuren stört die Ab-

scheidung des Kupferoxyduls[1]). In der Geschichte der Abspaltung von Zucker aus Eiweiß haben diese Umstände eine große Rolle gespielt.

6. Besonders kompliziert liegen die Verhältnisse beim Harn.

Wollte man in einem Urin, der gleichzeitig Traubenzucker und Arabinose, oder Glucose und Maltose, oder Milchzucker und Galaktose enthält, sich auf die Reduktionsanalyse verlassen, so würde man zu völlig falschen Resultaten gelangen.

Eine Hydrolyse nicht reduzierender Kohlenhydrate im Harne direkt ist mit beträchtlichen Schwierigkeiten verknüpft. Denn bei längerem Kochen in mineralsaurer Lösung reagieren die empfindlichen Zucker mit Bestandteilen des Harns und werden dadurch verändert.

Wollte man den Gehalt eines Harns an gepaarten Glucuronsäuren nach Hydrolyse derselben reduktionsanalytisch ermitteln, so würde man doppelten Fehler begehen. Denn einmal gelingt bei fast keiner gepaarten Glucuronsäure eine einigermaßen glatte Spaltung und dann treten auch reduzierende Paarlinge auf. Bei einer solchen Hydrolyse werden aber auch die gepaarten Schwefelsäuren zerlegt. Wenn letztere ebenfalls einen reduzierenden Paarling liefern, so ergibt die Reduktionsbestimmung ein völlig falsches Bild.

Ein solcher Fall ist z. B. bei Carbolsäure- oder Lysolvergiftung gegeben.

Es finden sich im Harn Ätherschwefelsäuren und Glucuronsäuren des Phenols und der Kresole, daneben aber auch der Polyphenole, des

---

[1]) Wohl stören einzelne Aminosäuren nicht; so ist ja Glykokollkupfer direkt ein Reagens auf reduzierende Zucker (Pieraerts, Ch. C. 1908, I, 1855). Auch für andere einzelne Aminosäuren ist, wie M. Rosenblatt (diese Zeitschr. 48, 478, 1912) gezeigt hat, der Fehler gering. Doch ist das einfach eine Funktion der Menge. Übersteigt die Quantität von Peptonen oder des Gemisches sämtlicher Eiweißspaltprodukte die Quantität des vorhandenen Zuckers um etwa das 5fache, so scheidet sich das Kupferoxydul nicht quantitativ oder in nicht filtrierbarer, z. T. kolloidaler Form aus. Keinesfalls kann, wie das nach Rosenblatts Angaben scheinen könnte, in Aminosäurengemischen stets ein Ausfall von Cu_2O erzielt werden. Offenbar wirkt auch das Gemenge sämtlicher Eiweißspaltprodukte ganz anders wie einzelne Aminosäuren. Das Ammoniak, die Diaminosäuren und das Cystin spielen noch eine besondere Rolle.

Hydrochinons, Brenzcatechins und Resorcins, bzw. deren Methylhomologe. Alle diese Polyphenole reduzieren alkalische Lösungen von Kupfersalzen (und anderen Metallverbindungen), liefern also eine Kupferoxydulmenge, die kein Äquivalent der abgespaltenen Glucuronsäure ist.

Weiter kompliziert werden die Verhältnisse dadurch, daß in manchen Vergiftungsfällen neben gepaarten Glucuronsäuren auch Zucker, ja selbst freie Glucuronsäure[1]) ausgeschieden wird. Die gepaarten Glucuronsäuren reduzieren zum Teil auch schon vor der Hydrolyse, einige infolge der Konstitution des Paarlings [Typus Urochloralsäure], andere infolge partiellen Zerfalls beim Kochen mit der Fehlingschen Mischung [Typus Benzoeglucuronsäure (Glucuronsäuren der Esterklasse)]. Die Größe dieser teilweisen Hydrolyse schwankt mit den mannigfaltigsten Faktoren.

Die genannten Fälle stellen Schulbeispiele dar, die sich aus der täglichen analytischen Praxis hundertfältig vermehren ließen. Die angeführten Fälle lassen nun erkennen, daß es durchaus verfehlt ist, als Dogma etwa die Forderung aufzustellen, stets reduktionsanalytische Zuckerbestimmungen vorzunehmen. Dies Verlangen, das von einzelnen französischen Autoren geltend gemacht ist, läßt sich nicht durchführen!

Wie ich im Handbuch[2]) „Der Harn" dargelegt habe, ist die Wahl der Methode selbstverständlich von dem Material abhängig, das zu analysieren ist. Neben quantitativen Gärversuchen, die unter Berücksichtigung aller Fehlerquellen anzustellen sind, kommt in erster Reihe die Polarisation als Bestimmungsmethode in Betracht.

Es ist kein Zufall, daß die jahrzehnte alte Erfahrung der Zuckerindustrie sich für das optische Verfahren entschieden hat. Denn an sich kann diese physikalische Methode an Genauigkeit mit den analytischen Verfahren durchaus wetteifern[3]).

---

[1]) F. Blumenthal, diese Zeitschr. 1, 135, 1906.

[2]) C. Neuberg, Der Harn. Berlin 1911.

[3]) Unrichtig ist auch das Argument Rosenblatts (l. c.), daß die polarimetrische Methode erst bei höherer Zuckerkonzentration brauchbare Werte liefere. Abgesehen davon, daß man in vielen Fällen durch einfaches Einengen größere Ausschläge erzielen kann, gestatten die modernen Polarisationsapparate und ihre Ausbildung zu Mikroapparaten durch Emil Fischer die Benützung sehr langer Röhren, die nur kleinste Flüssigkeitsmengen fassen. Übrigens werden bei der Verwendung der „optischen Methode" durch Abderhalden selbst minimale Drehungsänderungen zu bindenden Schlüssen verwertet.

Schon der bloße Sinn der Drehung — nach links oder rechts — gewährt die wichtigsten Anhaltspunkte!

Daß kleinste Zuckermengen sich der Möglichkeit einer reduktionsanalytischen Ermittlung vielfach entziehen, ist eine tägliche Erfahrung der Harnanalyse.

Es ist fast eine Regel, daß sich ein Zuckergehalt eines Urins von 0,1 bis 0,2 % nicht durch direkte Titration ermitteln läßt, einfach weil das Kupferoxydul gelöst bleibt[1]).

Diese Störung geht so weit, daß selbst für den qualitativen Nachweis des Zuckers erst eine Vorbehandlung des Urins oder ähnlicher Flüssigkeiten erforderlich sein kann[2]), nur um überhaupt einen Ausfall von Kupferoxydul zu erzielen.

Polarimetrisch läßt sich dagegen ein Zuckergehalt von 0,1 bis 0,2 % mit voller Schärfe erkennen. Selbst die einfachsten Saccharometer gestatten eine Ablesung auf 0,1 % und eine Schätzung auf 0,05 % genau. Es ist in praxi meist ganz gleichgültig, ob ein Harn 0,23 % oder 0,20 bzw. 0,25 % Zucker enthält.

Im Gegensatz zu anderen Bestrebungen muß ich daher namentlich für Anfänger oder bei Massenuntersuchungen am Krankenbette oder dergl. die möglichst ausgedehnte Anwendung der polarimetrischen Zuckerbestimmungen befürworten.

4.

Über die Substanzen, die am Zustandekommen der sogenannten Cammidgeschen Reaktion beteiligt sind.

Cammidge hat angegeben, daß manche Harne nach dem Kochen mit Salzsäure, darauf folgender Behandlung mit Bleicarbonat und Bleisubacetat und nach Entbleiung mittels Natriumsulfats mit essigsaurem Phenylhydrazin Osazonkrystalle liefern.

Unter Anführung der Literatur — auf die hier verwiesen sei — habe ich an anderer Stelle[3]) dargelegt, daß im Harn

---

[1]) Vgl. auch die treffenden Ausführungen von B. Oppler, Zeitschr. f. physiol. Chem. **75**, 71, 1911.

[2]) Z. B. mit festem oder gelöstem Mercuriacetat: C. Neuberg, Der Harn. Handb. **1911**, S. 328, 333; ferner E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **79**, 169, 1912.

[3]) C. Neuberg, Der Harn. Handb. **1911**, S. 463 und 464.

eine einheitliche Muttersubstanz für die Osazonkrystalle der Cammidgeschen Reaktion nicht existieren kann.

Als weitere Beweise nach dieser Richtung seien folgende Erfahrungen mitgeteilt.

Gemeinsam mit S. Saneyoshi habe ich[1]) gezeigt, daß man in minimalen Mengen von Glucuronsäureosazon durch die von uns angewendete Modifikation der Naphthoresorcinprobe mit Sicherheit das Vorliegen von Glucuronsäure nachweisen kann. F. Blumenthal und P. Mayer[2]) haben vor Jahren angegeben, daß sich die Pentosenreaktion mit Orcin auch an Pentosazonen ausführen läßt. Da nun die modifizierte Naphthoresorcinprobe mit Pentosazonen nicht eintritt und Hexosazone weder Orcin- noch Naphthoresorcinreaktion geben, so hat man ein Mittel, auch bei kleinen Mengen der Phenylhydrazinverbindungen durch sinngemäße Anwendung dieser einfachen Farbenreaktionen einiges über die Natur der zugrunde liegenden Kohlenhydrate zu ermitteln.

Ich habe Gelegenheit gehabt, 7 menschliche Harne zu untersuchen, die eine typische Cammidgesche Reaktion gaben.

In 5 Fällen erwies sich das Osazon durch den positiven Ausfall der Naphthoresorcinprobe als Glucuronsäureverbindung[3]). In einem Falle war die Naphthoresorcinreaktion negativ, aber die Orcinprobe positiv, so daß man Pentosazon annehmen muß. In einem Falle blieb Pentosen- wie Glucuronsäurereaktion aus; das Osazon schmolz bei 195 bis 197°, so daß hier wohl ein Hexosazon vorlag.

Auch mit Tierurinen erhält man bei Ausführung der sog. Cammidgeschen Reaktion nicht selten Osazonkrystalle. Bei Rind und Pferd habe ich dieselben mit den Farbenproben geprüft und stets Glucuronsäure darin nachweisen können. Nur in einem Falle bot die erhaltene Verbindung ein besonderes Interesse, da sie sich von den sonst erhaltenen Produkten als

---

[1]) C. Neuberg und S. Saneyoshi, diese Zeitschr. **36**, 56, 1911.

[2]) F. Blumenthal und P. Mayer, Zeitschr. f. klin. Med. **37**, 420, 1899.

[3]) H. Weber (Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 4) spricht sich auf Grund von Schmelzpunktsbestimmungen unter dem Mikroskop für die Hexosennatur der betreffenden Substanz aus. Da Glucosazon und Glucuronsäureosazon jedoch gleiche Schmelzpunkte haben, so ist eine Entscheidung auf diesem Wege unmöglich.

durchaus verschieden erwies. Es handelte sich um einen Kälberharn. Die isolierte Phenylhydrazinverbindung schmolz bei 135 bis 137° und gab weder eine typische Naphthoresorcinprobe noch die Orcinreaktion. Der ungewöhnlich niedrige Schmelzpunkt deutete von vornherein darauf hin, daß hier auch kein Hexosazon vorliegen könne.

Es zeigte sich weiter, daß diese Substanz aus dem nativen Harn ebenfalls erhältlich war, d. h. ohne vorherige Behandlung mit heißer Salzsäure, Bleicarbonat usw. Dadurch war es möglich, die Verbindung in einer zur Charakterisierung hinreichenden Menge zu gewinnen.

Aus 1,2 l des Kälberharns schieden sich 0,49 g Phenylhydrazinverbindung ab nach 2stündigem Erwärmen mit 3 ccm Phenylhydrazin und 10 ccm 50%iger Essigsäure im siedenden Wasserbade und darauf folgender 12stündiger Aufbewahrung im Eisschrank. Die abgesaugten Krystalle lösten sich fast vollständig in verdünnter Kalilauge auf und fielen auf Essigsäurezusatz wieder aus. Durch Umkrystallisieren aus heißem verdünntem Alkohol stieg der Schmelzpunkt auf 141°, der sich bei weiterem Umkrystallisieren nicht mehr änderte. An reiner Substanz (hellgelben feinen Nadeln) wurden 0,19 g isoliert. Eine Stickstoffbestimmung ergab folgendes Resultat:

0,1033 g Substanz: 15,1 ccm N (15°, 764 mm),

d. h. N = 17,21%.

Stickstoffgehalt, Schmelzpunkt und Eigenschaften der Verbindung entsprachen den für Glyoxylsäurephenylhydrazon gemachten Angaben[1]. ($C_6H_5.HN.N:CH.COOH = C_8H_8N_2O_2$ enthält 17,07% N.)

Es liegt nahe, für die Bildung des Glyoxylsäurederivates als Quelle Allantoin anzunehmen. Tatsächlich ergab Allantoin beim Erwärmen mit Phenylhydrazinacet einen noch zu untersuchenden, nicht sehr reichlichen Niederschlag.

---

[1] E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **17**, 577, 1884. — H. v. Pechmann, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **29**, 2163, 1896. — Denis, Amer. chem. Journ. **38**, 561, 1908.

Autorenverzeichnis.






ALF Collections Vault
3 0000 091 477 228